

ANA RITA TEIXEIRA DE BARROS

**PERITONITE INFECCIOSA FELINA: ESTUDO
RETROSPECTIVO DE 20 CASOS CLÍNICOS**

Orientadora: Professora doutora Andreia Santos

Co-orientador: Mestre Luís Resende

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2014

ANA RITA TEIXEIRA DE BARROS

**PERITONITE INFECCIOSA FELINA: ESTUDO
RETROSPECTIVO DE 20 CASOS CLÍNICOS**

**Dissertação apresentada para a obtenção do Grau de
Mestre em Medicina Veterinária no curso de
Mestrado Integrado em Medicina Veterinária
conferido pela Universidade Lusófona de
Humanidades e Tecnologias**

**Orientadora: Professora doutora Andreia Santos
Co-orientador: Mestre Luís Resende**

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2014

AGRADECIMENTOS

À Professora Doutora Andreia Santos, minha orientadora, por toda a disponibilidade, ajuda e apoio no desenvolvimento da minha dissertação de mestrado.

Ao Mestre Luís Resende, meu co-orientador, pela transmissão de conhecimentos ao longo da minha formação e pelo apoio na realização desta dissertação.

A toda a equipa de Médicos Veterinários e auxiliares do Hospital Veterinário Principal, pela transmissão de conhecimentos que me proporcionaram, pelo apoio e boa disposição constantes. Um especial agradecimento à Dra. Cristina Alves por toda a paciência, experiência e conhecimentos transmitidos, ao Dr. Tiago Magalhães pela ajuda na escolha do tema e recolha de dados e ao Dr. Francisco Martins por me permitir iniciar nas práticas ecográficas e por toda a disponibilidade demonstrada.

Aos meus amigos e colegas Marta, Mané, Mariana e Daniel por todos os momentos de alegria, aflição, diversão e amizade que passámos ao longo dos últimos anos.

Aos meus pais, Paula e Zé, pelo amor, amizade, apoio incondicional e por estarem sempre presentes nos bons e maus momentos da minha vida. Por terem sempre acreditado em mim e me terem ajudado a realizar este sonho! À minha mana, Diana, por ser um exemplo para mim.

Ao meu miúdo, Sandro, pela força transmitida, pela paciência e pelo amor demonstrado ao longo dos últimos 6 anos.

Ao meu Furby, meu fiel companheiro ao longo destes anos por me ter mostrado a minha verdadeira vocação.

RESUMO

A Peritonite Infecciosa Felina (PIF) é uma das mais importantes doenças infecciosas fatais em gatos. Trata-se de uma doença imunomediada causada pelo Coronavírus Felino (FCoV) que afecta principalmente animais jovens e para a qual ainda não existe um tratamento eficaz.

O objectivo deste estudo foi avaliar os aspectos epidemiológicos e clínico-patológicos presentes numa amostra populacional de 20 felídeos diagnosticados com PIF no Hospital Veterinário Principal entre 2006 e 2014, a fim de identificar eventuais factores de risco e as alterações clínicas e laboratoriais mais frequentes. Foi ainda avaliado o tratamento instituído e o tempo médio de vida após o diagnóstico.

O presente estudo demonstrou que a PIF é uma doença que ocorre em felídeos jovens, com uma média de idades de 17 meses, tendo-se verificado uma proporção significativamente maior de gatos machos (70%) com PIF comparativamente a fêmeas (30%). Os principais sinais clínicos apresentados foram perda de peso (80%), anorexia (80%), pirécia (75%) e distensão abdominal (75%) e as principais alterações hematológicas foram trombocitopenia (82,4%), linfopenia (64,7%), anemia (52,9%), hiperproteinémia (61,5%) e hipoalbuminémia (61,5%). A forma efusiva de PIF foi encontrada em 15 gatos e a forma não-efusiva em 5 gatos. As principais alterações encontradas no líquido de derrame nos gatos com PIF efusiva foram uma coloração amarela, proteínas totais entre 4,5-6,2 g/dL e ratio Albumina: Globulina < 0,4.

No que concerne à terapêutica instituída, a prednisolona foi o fármaco mais utilizado no tratamento de PIF, tendo sido utilizada em 84,6% dos animais submetidos a tratamento. O interferão ómega recombinante felino apenas foi utilizado em 38,5% dos animais, aos quais também foi administrada concomitantemente prednisolona. Verificou-se a existência de diferenças estatisticamente significativas no tempo de sobrevida entre gatos tratados com interferão ómega felino e gatos tratados com outros fármacos ($p=0,013$). O tempo de sobrevida dos felinos submetidos a tratamento variou de um mínimo de 7 dias a um máximo de 240 dias, sendo a média de 43,7 dias, não se tendo verificado a existência de diferenças estatisticamente significativas no tempo de sobrevida entre gatos com PIF efusiva e gatos com PIF não efusiva ($p=1,000$).

Palavras-chave: PIF, FCoV, factores de risco, interferão ómega recombinante felino, tempo de sobrevivência

ABSTRACT

Feline Infectious Peritonitis (FIP) is one of the most important fatal infectious diseases on cats. It is an immune-mediated disease caused by feline coronavirus (FCoV) that mainly affects young animals and for which there is still no effective treatment.

The aim of this study was to evaluate the epidemiological and clinicopathological aspects present on a population sample of 20 cats diagnosed with FIP at the Hospital Veterinário Principal from 2006 to 2014, in order to identify possible risk factors and the most frequent clinical and laboratory changes. It was also assessed the established treatment and the average survival time after diagnosis.

The present study demonstrated that FIP is a disease that occurs in young felines, with a mean age of 17 months, and it was found a significantly greater proportion of male cats (70%) with FIP compared with females (30%). The main clinical signs presented were weight loss (80%), anorexia (80%), pyrexia (75%) and abdominal distension (75%) and the main haematological changes were thrombocytopenia (82,4%), lymphopenia (64,7%), anaemia (52,9%), hyperproteinaemia (61,5%) and hypoalbuminaemia (61,5%). The effusive form of FIP was found in 15 cats and non-effusive form in 5 cats. The main changes found in effusion fluid in cats with effusive FIP were a yellow color, total proteins between 4,5-6,2 g/dL and Albumin: Globulin ratio $< 0,4$.

As far as therapeutic approach is concerned, prednisolone was the most commonly used drug in the treatment of FIP, and it had been used in 84,6% of animals subjected to treatment. The recombinant feline interferon omega was used in only 38,5% of the animals, to which was concomitantly administered prednisolone. It has been found that there are significant differences in survival time between cats treated with feline interferon omega and cats treated with other drugs ($p=0,013$). The survival time of treated cats ranged from 7 days to a maximum of 240 days, with a mean of 43,7 days, and there was no statistically significant differences in survival time between cats with effusive FIP and cats with non-effusive FIP ($p=1,000$).

Keywords: FIP, FCoV, risk factors, recombinant feline interferon omega, survival time

ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ADEI- *Antibody-dependent enhancement of infectivity* (Potenciação da infecção dependente de anticorpos)

A:G- *Ratio* albumina-globulina

AGP- Glicoproteína ácida α -1

ALT – Alanina aminotransferase

APN - Aminopeptidase-N

BID- Duas vezes por dia

BUN- *Blood urea nitrogen* (Ureia sérica)

CCoV - Coronavírus canino

CHCM - Concentração de hemoglobina corpuscular média

CID- Coagulação intravascular disseminada

DNA- Ácido desoxirribonucleico

ELISA- *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (Ensaio imunoenzimático)

FA- Fosfatase alcalina

FCoV- Coronavírus felino

FECV- Coronavírus Felino Entérico

FeLV- Vírus da Leucemia Felina

FIV- Vírus da Imunodeficiência Felina

FIPV- Vírus da Peritonite Infecciosa Felina

HCM- Hemoglobina corpuscular média

HVP- Hospital Veterinário Principal

IFD- Imunofluorescência directa

IFI- Imunofluorescência indirecta

IFN- Interferão

IHQ- Imunohistoquímica

IL- Interleucina

LCR- Líquido cefalorraquidiano

mRNA- RNA mensageiro

ORF – *Open reading frame* (Fase de leitura aberta)

PAAF- Punção aspirativa com agulha fina

PIF- Peritonite Infecciosa Felina

PO- *Per os* / via oral

RNA- Ácido ribonucleico

RT-PCR - *Reverse transcriptase polymerase chain reaction* (Reacção em cadeia da polimerase em tempo real)

SAA- Soro amilóide A

SID- três vezes por dia

SNC- Sistema nervoso central

TID- três vezes por dia

TNF- Factor de Necrose Tumoral

U - Teste U de Mann-Whitney

VCM- Volume corpuscular médio

VPN- Valor preditivo negativo

VPP- Valor preditivo positivo

α – Alfa

β – Beta

γ - Gama

ω - Omega

% - Percentagem

< - Inferior

> - Superior

μg - Micrograma

μL - Microlitro

dL- Decilitro

fl - Fentolitro

g- Grama

kg- Quilograma

L- Litro

ml- Mililitro

p - p-value

pg- Picogramas

pH- Potencial de hidrogénio iónico

ÍNDICE GERAL

I.	INTRODUÇÃO.....	13
1.	Caracterização do Coronavírus Felino.....	13
2.	Epidemiologia.....	15
2.1.	Prevalência.....	15
2.2.	Factores de Risco	15
2.2.1.	Idade.....	15
2.2.2.	Raça.....	16
2.2.3.	Género e estado reprodutivo	17
2.2.4.	Sazonalidade	18
2.2.5.	Stress	18
2.2.6.	Imunossupressão e doenças concomitantes	18
2.3.	Transmissão	19
2.4.	Infecção e excreção viral	19
3.	Fisiopatologia	20
3.1.	FCoV nos enterócitos.....	20
3.2.	Mutação viral	20
3.3.	Entrada do FIPV nos macrófagos/ monócitos	23
3.4.	Formação da lesão.....	23
4.	Resposta Imunitária	24
4.1.	Imunidade Humoral	25
4.2.	Imunidade Celular.....	26
5.	Apresentação clínica.....	27
5.1.	Anamnese.....	27
5.2.	Sinais Clínicos	27
5.2.1.	Forma húmida	28
5.2.2.	Forma seca	29
5.2.3.	Forma intestinal	30
6.	Diagnóstico	31
6.1.	Hemograma.....	31
6.2.	Análises Bioquímicas.....	32
6.3.	Análise da efusão	33
6.4.	Análise do líquido cefalorraquidiano e do humor aquoso	35

6.5.	Imagiologia	35
6.6.	Testes serológicos	37
6.7.	Diagnóstico Molecular utilizando RT-PCR.....	40
6.8.	Histopatologia	41
6.9.	Imunofluorescência directa e Imunohistoquímica	41
7.	Tratamento	43
7.1.	Tratamento imunossupressor	43
7.2.	Tratamento imunomodulador.....	44
7.3.	Tratamento antiviral.....	45
7.4.	Tratamento de suporte.....	46
7.5.	Outros tratamentos	47
7.5.1.	Vitaminas e antioxidantes	47
7.5.2.	Esteróides anabólicos	47
7.5.3.	Inibidores da tromboxano-sintetase	47
7.5.4.	Anticorpos monoclonais anti-TNF α felino	47
7.5.5.	Pentoxifilina.....	48
7.6.	Monitorização do tratamento e Prognóstico	48
8.	Prevenção.....	49
8.1.	Vacinação.....	49
8.2.	Controlo da PIF em situações específicas.....	50
II.	OBJECTIVOS.....	51
III.	MATERIAL E MÉTODOS	52
1.	Caracterização da amostra	52
2.	CrITÉrios de selecção dos casos.....	52
3.	Metodologia	52
4.	Análise estatística dos dados	54
IV.	APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS	55
1.	Caracterização epidemiológica da amostra estudada.....	55
2.	Caracterização clínica da amostra estudada.....	59
3.	Caracterização laboratorial da amostra estudada.....	60
4.	Tratamento e tempo médio de vida após o diagnóstico.....	64

V. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	68
VI. CONCLUSÕES.....	77
VII. BIBLIOGRAFIA	78
APÊNDICE I - VALORES DE REFERÊNCIA DO PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOQUÍMICO DA ESPÉCIE FELINA	I
APÊNDICE II - DADOS ESTATÍSTICOS RELATIVOS À TITULAÇÃO DE ANTICORPOS ANTI-CORONAVÍRUS FELINO NO LABORATÓRIO DNATECH REFERENTES AO ANO 2013.....	II
APÊNDICE III - MEDIDAS PARA O CONTROLO DE PIF EM GATIS.....	III
APÊNDICE IV - MEDIDAS PARA A PREVENÇÃO DA INFECÇÃO POR FCOV EM GATINHOS.....	V

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição dos dois grupos de animais relativamente à ocorrência de hiperbilirrubinémia	62
Tabela 2 - Resultados da avaliação da efusão nos 15 animais com PIF efusiva	63
Tabela 3 - Distribuição da população em relação ao título de anticorpos encontrado em cada animal, pelo método de IFI.....	64
Tabela 4 - Resultados do Teste de Shapiro-Wilk realizado para avaliação dos dados quanto à normalidade (Tempo médio de vida <i>versus</i> Tratamento utilizado).....	65
Tabela 5 - Resultados do Teste Mann-Whitney realizado para comparar o tempo médio de vida do grupo de gatos tratados com interferão ómega felino com o de gatos tratados com outros fármacos	66
Tabela 6 - Tempo de sobrevida (dias), média, moda e mediana	66
Tabela 7 - Resultados do Teste de Shapiro-Wilk realizado para avaliação dos dados quanto à normalidade (Tempo de vida após o diagnóstico).....	67
Tabela 8 - Resultados do Teste Mann-Whitney realizado para comparar o tempo de sobrevida de gatos com PIF efusiva e gatos com PIF não-efusiva	68

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Distribuição dos animais por género (Frequência relativa)	55
Gráfico 2 - Distribuição da amostra de acordo com o estado reprodutivo (Frequência relativa)	55
Gráfico 3 - Distribuição etária dos gatos diagnosticados com PIF (Frequência relativa)	56
Gráfico 4 - Distribuição da amostra por raça (Frequência relativa)	56
Gráfico 5 - Distribuição da amostra relativamente à sua origem (Frequência relativa)	57
Gráfico 6 - Distribuição da amostra relativamente ao acesso à rua (Frequência relativa)	57
Gráfico 7 - Distribuição da amostra relativamente à época do ano associada a maior mortalidade devido a PIF (Frequência relativa)	58
Gráfico 8 - Distribuição da amostra relativamente à exposição a um evento stressante (Frequência relativa)	58
Gráfico 9 - Distribuição dos sinais clínicos na amostra estudada (Frequência relativa)	59
Gráfico 10 - Distribuição da forma de PIF na amostra estudada (Frequência relativa)	60
Gráfico 11 - Distribuição das alterações do hemograma (Frequência relativa)	61
Gráfico 12 - Distribuição das alterações no perfil bioquímico da amostra (Frequência relativa)	61
Gráfico 13 - Distribuição da população relativa à terapêutica instituída nos animais com PIF	65
Gráfico 14 - Tempo de sobrevivência (dias) dos gatos submetidos a tratamento	67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Modelo da estrutura do coronavírus	13
Figura 2 - Piogranulomas na serosa do intestino e baço de um gato com a forma efusiva de PIF	24
Figura 3 - Precipitados queráticos num gato com PIF	29
Figura 4 - Ultrassonografia abdominal de um gato de 1 ano de idade com PIF	36

I. INTRODUÇÃO

1. CARACTERIZAÇÃO DO CORONAVÍRUS FELINO

O Coronavírus Felino (FCoV) é um vírus pertencente à família *Coronaviridae*, uma grande família de vírus de RNA de cadeia simples, sentido positivo, não-segmentados e com envelope. São encontrados em muitos animais estando geralmente adaptados para infectar células epiteliais do tracto respiratório e gastrointestinal (Masters, 2006).

Os coronavírus estão divididos em 5 grupos antigénicos sendo que o FCoV pertence ao grupo I estando antigenicamente relacionado com o Coronavírus Entérico Canino (CCoV), Vírus da Gastroenterite Transmissível Suína, Coronavírus Respiratório Porcino e Coronavírus Humano Serótipo 229E, aos quais os gatos são susceptíveis (Wege *et al.*, 1982, citado por Benetka *et al.*, 2004).

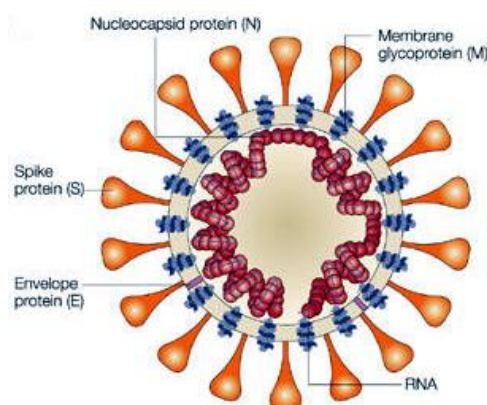


Figura 1 - Modelo da estrutura do coronavírus: diagrama esquemático da estrutura do virião. S - glicoproteína da espícula; M - glicoproteína de membrana; E - proteína do envelope; N - proteína da nucleocápside. (Adaptado <http://www.vetmed.vt.edu/>)

As principais proteínas do FCoV são a glicoproteína da espícula (S), a proteína da nucleocápside (N), a glicoproteína de membrana (M) e a proteína do envelope (E) (Figura 1). A proteína S é responsável pela fixação a receptores celulares específicos, indução de anticorpos neutralizantes e desencadeamento da imunidade mediada por células (Rottier *et al.*, 2005). Encontra-se incorporada no envelope na forma de espículas, conferindo uma aparência de coroa, a que se deve o nome do vírus. A glicoproteína M é a proteína estrutural mais abundante, com importantes funções na montagem viral (Rottier, 1995). A proteína da membrana também interage com a imunidade mediada por células do hospedeiro e também é

conhecida por induzir o interferão alfa e a apoptose (Zhao *et al.*, 2006). A proteína E interage com a proteína M na montagem viral das células do hospedeiro. A proteína N juntamente com o RNA viral forma uma nucleocápside helicoidal e flexível e também parece ter importância na transcrição viral (Olsen, 1993, citado por Kipar & Meli, 2014). Estudos vacinais baseados na proteína N indicam que esta induz a imunidade mediada por células e pode ter um papel protector relativamente ao desenvolvimento da doença (Hohdatsu *et al.*, 2003).

Existem dois serótipos antigenicamente distintos de FCoV, tipo I e tipo II, que utilizam diferentes receptores para a entrada nas células mas originam as mesmas manifestações clínicas, sendo que qualquer um deles pode causar Peritonite Infecciosa Felina (PIF). Contudo, a maior parte das estirpes pertence ao tipo I (Benetka *et al.*, 2004). O tipo II do FCoV resulta de uma recombinação genética entre o FCoV e o CCoV, especificamente no gene que codifica a proteína S, sendo que a maior parte das espículas do FCoV tipo II consiste em espículas do CCoV. Por este motivo, este serótipo de FCoV está antigenicamente mais relacionado com o CCoV do que com o serótipo I do FCoV (Vennema *et al.*, 1995).

Foi demonstrado que FCOVs tipo I induziam títulos de anticorpos mais elevados do que FCOVs tipo II e estavam mais frequentemente associados a sinais clínicos e /ou PIF (Kummrow *et al.*, 2005). Num estudo realizado em Portugal em 2009, foi estudada a distribuição do FCoV tipo I e tipo II numa população de 120 gatos de Portugal através da metodologia RT-PCR. Verificou-se que das 57 amostras positivas, foi detectado o FCoV tipo I em 79% das amostras enquanto que o FCoV tipo II apenas foi detectado em 3,5%, sendo que nas restantes 17,5% amostras, não se conseguiu diferenciar o serótipo (Duarte *et al.*, 2009).

O FCoV também é caracterizado de acordo com a sua virulência em dois biótipos: o Coronavírus Felino Entérico (FECV) e o Vírus da Peritonite Infecciosa Felina (FIPV). O FECV é o biótipo mais comum e está associado a infecções assintomáticas ou que resultam em alterações gastrointestinais autolimitantes ou de gravidade moderada. O biótipo associado com PIF (FIPV) ocorre apenas numa pequena percentagem de gatos infectados.

No passado julgava-se que os tropismos celulares diferentes destes dois biótipos de FCoV podiam explicar as diferentes manifestações da doença: que o FECV se replicava apenas nos enterócitos, não ultrapassando a barreira da mucosa intestinal e causando diarreia ou infecção assintomática, enquanto o FIPV se replicava nos monócitos/macrófagos, conduzindo a infecção sistémica e induzindo o desenvolvimento de PIF (Pedersen *et al.*, 1981). Contudo, quando se tornaram disponíveis métodos moleculares mais sensíveis, foi

demonstrado que o FECV também pode infectar monócitos e que o FCoV geralmente se propaga desde o local inicial de infecção, o intestino, através de uma virémia associada aos monócitos (Gunn-Moore *et al.*, 1998; Meli *et al.*, 2004; Kipar *et al.*, 2006).

2. EPIDEMIOLOGIA

2.1. Prevalência

A PIF é uma das doenças fatais mais comuns em gatos jovens provenientes de abrigos e gatis (Norsworthy, 2011). Apesar de ser maioritariamente uma doença dos felinos domésticos, também já foi identificada em leões, leopardos, jaguares, leões de montanha, chitas e lincos (Pedersen, 2009). A prevalência da infecção pelo FIPV na população geral de gatos é difícil de determinar porque os testes serológicos para detecção de anticorpos anti-coronavírus felino não permitem distinguir entre o FIPV e o FECV (Sherding, 2006). Estima-se que a percentagem de gatos seropositivos para FCoV é de 82% em exposições de gatos, 53% em gatos com pedigree, 28% dos gatos domésticos em residências com vários gatos e cerca de 15% dos gatos domésticos em casas com apenas um gato (Ramsey & Tennant, 2001). Contudo, apesar da prevalência da infecção em casas com vários co-habitantes ser alta, apenas aproximadamente 10% desses gatos desenvolvem PIF. (Addie & Jarrett, 1992).

Resultados de dois estudos que decorreram na Áustria e no Japão, nos quais foi realizado um levantamento da prevalência dos dois serótipos de FCoV, sugeriram que a maior parte das infecções por FCoV é devido ao tipo I (Hohdatsu *et al.*, 1992; Posch *et al.*, 1999). Num estudo de 1999, realizado por Posch *et al.* em populações de gatos austríacos sem sinais de PIF, verificou-se que 71% eram seropositivos mas apenas 26% testaram positivo para o ácido nucleico do FCoV no sangue.

2.2. Factores de risco

2.2.1. Idade

A grande maioria dos gatos domésticos que desenvolvem PIF têm entre 3 meses e 3 anos de idade, sendo que pelo menos 50% dos gatos afectados têm até 12 meses de idade. Contudo, a PIF pode ocorrer em qualquer idade, existindo um segundo pico de incidência da

doença em gatos geriátricos (> 10 anos de idade), possivelmente devido a uma função imunitária subótima (Rohrbach *et al.*, 2001; Worthing *et al.*, 2012). O risco de desenvolver PIF é maior em gatos muito jovens devido à imaturidade do seu sistema imunitário e à exposição a vários factores de stress tais como desmame, castração, vacinação e realojamento, que podem comprometer ainda mais a sua imunidade. Estes gatinhos jovens podem ter também uma maior prevalência de agentes patogénicos entéricos transmitidos por via fecal-oral (*Toxocara sp.*, *Giardia sp.*, *Tritrichomonas sp.*), o que pode contribuir de alguma forma para a replicação do FCoV nos macrófagos (Bissett *et al.*, 2009).

Num estudo efectuado por Worthing *et al.* (2012), em que se avaliou a idade como factor de risco de PIF, verificou-se que as idades dos 382 animais em que foi confirmado o diagnóstico de PIF variaram entre os 2 meses e os 15 anos de idade. Contudo, a maior parte destes animais tinham menos de 1 ano de idade e 50% tinha menos de 7 meses de idade. A distribuição bimodal da idade referida por outros autores não foi evidente neste estudo.

A PIF é tipicamente fatal entre os 3 e os 16 meses de idade e as mortes geralmente ocorrem como eventos isolados em gatis ou abrigos. Geralmente são esporádicas, imprevisíveis e pouco frequentes. Em gatis com casos esporádicos de PIF é provável que haja mais mortes se forem criados muitos gatinhos durante um longo período de tempo. Quanto mais tempo os gatinhos demorarem a ser adoptados, maior o risco (Norsworthy, 2011).

2.2.2. Raça

Embora esta doença ocorra em todas as raças, os gatos de raça pura são mais susceptíveis. Pensa-se que pode existir uma predisposição em algumas raças, em particular o Abissínio, Bengal, Birmanês, Burmês, Britânico de pelo curto, Himalaio, Ragdoll e Devon Rex (Pesteanu-Somogyi *et al.*, 2006). A predisposição racial pode variar geograficamente e temporalmente, dependendo das preferências dos criadores da região e as linhagens familiares específicas podem estar mais predispostas do que propriamente as raças (Pedersen, 2009).

Os gatos de raças puras têm uma maior probabilidade de serem provenientes de gatis de criação, o que por si só constitui um ambiente de maior stress pelo maior número de animais, introdução regular de novos gatos e reprodução frequente (Kass & Dent, 1995).

Num estudo efectuado por Worthing *et al.* (2012), em que se avaliou a raça como factor de risco de PIF, verificou-se que 60% dos casos de PIF observados correspondiam a gatos de raça pura, estando significativamente sobre-representados quando comparados com a base de dados do "Registo de Animais de Companhia" de New South Wales. As raças que

estiveram significativamente sobre-representadas foram sobretudo o Devon Rex, Britânico de pelo curto e Abissínio. O facto de nem todas as raças estarem sobrerrepresentadas faz com que se questione a noção de que o principal factor de risco para a predisposição racial é o facto de gatos de raças puras residirem ou iniciarem as suas vidas em casas com vários gatos (Kass & Dent, 1995). A sobre-representação de algumas raças pode indicar que linhagens familiares em particular dentro das raças têm um maior risco de PIF (Worthing *et al.*, 2012). Tem sido sugerido que pode haver uma componente genética envolvida na eficácia da resposta imunitária dos gatos e subsequente susceptibilidade a PIF (Foley & Pedersen, 1996, citado por Worthing *et al.*, 2012).

O aumento da prevalência que se encontra em algumas raças puras pode ser devido à concentração de factores hereditários através de cruzamentos consanguíneos (Foley & Pedersen, 1996, citado por Worthing *et al.*, 2012). Um estudo recente realizado por Golovko *et al.* (2013) que envolveu o estudo do genoma de 199 gatos birmaneses (raça com elevada consanguinidade e com uma alta incidência de PIF) dos quais 38 morreram de PIF, identificou 5 genes em 4 cromossomas diferentes que podem estar envolvidos na susceptibilidade a PIF.

2.2.3. Género e estado reprodutivo

Alguns estudos têm referido uma maior predisposição para o desenvolvimento de PIF em machos e gatos inteiros (Robison *et al.*, 1971, Rohrbach *et al.*, 2001).

Em 2012, foi efectuado um estudo na Austrália por Worthing *et al.*, em que se avaliou o género como factor de risco de PIF. Verificou-se que 61% dos casos de PIF observados correspondiam a machos, estando estes significativamente sobre-representados tendo em conta que estudos demográficos realizados anteriormente em Sidney indicavam que 45% da população felina seria constituída por machos (Toribio *et al.*, 2009.). Tal como noutras doenças onde existe predilecção sexual, o comportamento (ou co-morbilidades relacionadas com o comportamento) pode ser um factor predisponente em machos se estes forem, de facto, predispostos a PIF (Norris *et al.*, 2007). Neste estudo efectuado por Worthing *et al.* (2012), observou-se um risco maior para gatos inteiros, contudo, estes gatos eram significativamente mais novos do que os gatos esterilizados o que pode provavelmente ser explicado pelo facto de a maior parte dos gatos apenas ser esterilizada após os 6 meses de idade e consequentemente gatos jovens terem maior probabilidade de serem inteiros. A abundância relativamente grande de gatos inteiros na população com pedigree pode estar relacionada com

a ideia de que uma maior parte desses gatos são usados para reprodução do que no caso de raças cruzadas e que os gatos de raças puras podem, em média, ser esterilizados mais tarde. Assim, os autores concluíram que a sobre-representação de gatos inteiros provavelmente estará relacionada com a idade e com o facto de se tratarem de raças puras.

2.2.4. Sazonalidade

Foley *et al.* (1997) encontraram uma associação entre a estação do ano e a ocorrência da doença, com mortalidade mais provável durante o Outono e Inverno e que julgam poder dever-se ao facto dos animais passarem mais tempo recolhidos durante os meses de frio e à influência do *stress* associado às baixas temperaturas.

2.2.5. Stress

O stress também constitui um factor predisponente, sendo importante evitar situações como cirurgias, idas para gatis/hóteis, mudanças de meio ambiente ou traumas no manuseio de um gato FCoV positivo (Addie *et al.* 2009).

2.2.6. Imunossupressão e doenças concomitantes

A imunossupressão causada pela infecção com Vírus da leucemia felina (FeLV) ou Vírus da imunodeficiência felina (FIV) pode reforçar a criação e selecção de FIPVs mutantes através do aumento da taxa de replicação de FECV no intestino e inibição da capacidade do hospedeiro de combater os vírus mutados quando estes se formam (Poland *et al.*, 1996). Assim, animais com estas infecções têm alta prevalência de infecções por FECV, possivelmente devido à reduzida capacidade de resposta do sistema imunitário (Foley *et al.*, 1997). Nos anos 1970, 33% - 50% dos gatos com PIF eram co-infectados com o FeLV (Cotter *et al.*, 1973, citado por Pedersen, 2009). A infecção por FeLV suprime a resposta imunitária do tipo celular, que é vital para a resistência à PIF. Actualmente, a taxa de co-infecção é de apenas 5% devido aos testes de detecção existentes, eliminação/isolamento de animais FIV e/ou FeLV positivos e aos protocolos de vacinação para o FeLV (Weijer *et al.*, 1986, citado por Pedersen, 2009).

2.3. Transmissão

A transmissão do FCoV ocorre principalmente de forma indirecta, através do contacto com fezes ou fomites que contêm o vírus. Em estadios iniciais da infecção, o vírus pode ser encontrado na saliva durante algumas horas e possivelmente nas secreções respiratórias e na urina. Assim, pode ocorrer a transmissão através de aerossóis, partilha de taças de comida e grooming, mas apenas durante umas horas (Addie & Jarret, 2006). Por se tratar de um vírus com envelope, o FCoV é facilmente inactivado por desinfectantes e geralmente sobrevive menos de um ou dois dias à temperatura ambiente. Contudo, foi demonstrado que sob determinadas condições pode sobreviver até 7 semanas no ambiente. Nesta situação, as fomites podem ter um papel importante na transmissão (Addie *et al.*, 2009).

Actualmente, ainda se questiona se o FIPV é transmitido gato-a-gato (transmissão horizontal) ou através da mutação interna do FECV (transmissão vertical) pois embora não haja evidências sólidas de que os gatos com PIF transmitam o FIPV directamente a outros gatos, esta possibilidade foi sugerida como explicação para a ocorrência de pequenos surtos de PIF (Pedersen, 2009). Um surto de PIF no Taiwan associado com FIPV tipo II foi reportado por Wang *et al.* (2013), tendo ocorrido a morte devido a PIF em 7 dos 46 gatos de um abrigo. Contudo, Pedersen (2014b) considera que a ocorrência de mutação na ORF 3c que se verificou nas amostras recolhidas está provavelmente mais associada à ocorrência da doença do que a ocorrência de transmissão horizontal.

2.4. Infecção e excreção viral

Em gatis, os gatinhos são mais frequentemente infectados quando perdem a imunidade materna depois das 6 semanas de idade através do contacto com fezes provenientes de gatos adultos excretores do vírus (Addie *et al.* 2009).

O FCoV é primariamente excretado nas fezes de gatos com infecção entérica assintomática. Contudo, comparativamente com os gatos excretores saudáveis ou que apresentam diarreia, a quantidade de vírus excretado pelos gatos com PIF é muito baixa e a replicação é significativamente mais baixa nos intestinos do que em outros órgãos (Pedersen *et al.*, 2009; Hornyák *et al.*, 2012). O FIPV está fortemente ligado às células e aos tecidos e a sua excreção nas fezes ou urina apenas é possível sob circunstâncias especiais tais como lesões dos ductos colectores renais e da parede intestinal (Hardy & Hurvitz, 1971).

São observados dois padrões de excreção: gatos que excretam o vírus continuamente (cerca de 10-15%) e gatos que continuamente eliminam e readquirem a infecção, excretando o vírus apenas intermitentemente (cerca de 70-80%). Além disso, um pequeno número de gatos que são seropositivos para o FCoV podem nunca excretar o vírus nas fezes, tendo aparentemente um elevado grau de imunidade (menos de 5%) (Foley *et al.*, 1997). Desta forma, a evidência de excreção viral não é por si só uma boa razão para eutanasiar um gato dado que a maior parte deixa de excretar o vírus dentro de poucos meses e menos de 10% desenvolve PIF (Pedersen *et al.*, 2009). Assim, o vírus é mantido na população através de portadores crônicos e através da reinfeção de gatos que tinham deixado de excretar o vírus (Addie & Jarret, 2006).

Estudos experimentais com o FECV tipo I demonstraram a sua excreção consistente desde os 2 dias até 2 semanas pós-infecção, com um declínio subsequente na carga viral fecal e excreção intermitente até 20 semanas após este período (Meli *et al.*, 2004; Kipar *et al.*, 2010). Assim, a excreção viral inicia-se até 1 semana após a infecção e pode continuar durante semanas, meses ou durante toda a vida (Kipar & Meli, 2014).

3. FISIOPATOLOGIA

3.1. FCoV nos enterócitos

Os gatos são normalmente infectados com FCoV por exposição oronasal ao vírus (Addie & Jarret, 2006). Depois da infecção oronasal, o vírus inicialmente replica-se nas amígdalas e orofaringe, sendo excretado na saliva durante apenas algumas horas. O vírus pode penetrar no epitélio intestinal a partir do lúmen após a ingestão e a replicação de estirpes de FCoV de baixa patogenicidade ocorre no topo das vilosidades intestinais podendo associar-se a infecção assintomática ou a diarreia de intestino delgado, persistente ou intermitente, aguda ou crônica e, menos frequentemente, a vômitos e/ou inapetência (Pedersen *et al.*, 2008).

O vírus persiste principalmente no cólon mas também pode persistir nos macrófagos tecidulares, dando origem a uma viremia recorrente (Kipar *et al.*, 2010).

3.2. Mutação viral

Embora a causa exacta da patogénese de PIF ainda seja desconhecida, várias hipóteses têm sido sugeridas, nomeadamente a teoria da mutação interna, a teoria da

circulação de estirpes virulentas e avirulentas e a teoria da resposta imune relacionada com a interação hospedeiro-vírus (Myrrha *et al.*, 2011).

A elevada similaridade entre o FECV e o FIPV associada à baixa incidência de PIF, apesar da elevada proporção de gatos seropositivos para FCoV, conduziu à hipótese de que os portadores de FECV são fontes de FIPV, através da ocorrência de pequenas mutações no FECV (Pedersen *et al.*, 1984). Esta teoria denominada "**Teoria da mutação interna**" é, actualmente, a predominante e muitos estudos têm sido realizados para testar a sua validade (Pedersen *et al.*, 2009, 2012; Harley *et al.*, 2013). No entanto, a natureza precisa da mutação responsável pela patogénese não foi identificada embora estudos tenham sugerido que diferenças nas sequências da proteína estrutural S bem como das proteínas não estruturais 3c, 7a e 7b estejam envolvidas (Brown, 2011).

A mutação responsável pelo biótipo FIPV é consistentemente encontrada no gene 3c, que codifica uma pequena proteína de função desconhecida (Chang *et al.*, 2010). A deleção específica no gene do ORF 3c pode diferir mesmo entre gatinhos afectados na mesma ninhada, o que suporta a teoria da mutação interna e auto-infecção mais do que a transmissão horizontal como via primária de exposição (Vennema *et al.*, 1998). Outros estudos mostraram que o produto do gene não-estrutural 3c também pode ter um papel na patogénese (Pedersen *et al.*, 2009; Chang *et al.*, 2010). Um grupo de investigação encontrou deleções dentro deste gene que ocorriam na maior parte dos isolados de FIPV examinados (n=28) mas genes intactos em todos os isolados de FECV (n=27) (Chang *et al.*, 2010). Estes investigadores sugeriram que estas deleções conduziam a uma fraca replicação do vírus no intestino dos gatos, o que pode explicar, pelo menos em parte, o porquê de os surtos de PIF serem pouco frequentes.

Licitra *et al.* (2013), investigaram a sequência da zona de clivagem da proteína S, entre as subunidades S1/S2, e concluíram que uma mutação nesta zona e a modulação de um local reconhecido de furina, normalmente presente no gene S de FECV, são factores críticos que contribuem para o desenvolvimento da doença.

Kennedy *et al.* (2001), afirmaram que a ocorrência de alterações genéticas nas ORFs 7a e 7b parece estar relacionada com o aumento da incidência de PIF. Pelo contrário, num estudo realizado por Lin *et al.* em 2009, concluiu-se que deleções no gene 7b estão presentes em ambos os biótipos, ou seja, a mutação que leva a essa deleção não se correlaciona com a patogenicidade.

A **teoria da circulação de estirpes virulentas e avirulentas** baseia-se na análise filogenética e sugere que ambas as estirpes circulam na população felina e que indivíduos expostos às estirpes virulentas, com a predisposição apropriada, desenvolvem sequelas da doença. Como a PIF ocorre esporadicamente e surtos de PIF em populações de gatos domésticos são pouco comuns, existe pouca sustentação epidemiológica para esta teoria (Poland *et al.*, 1996).

Por último, a **Teoria da resposta imune relacionada com a interacção hospedeiro-vírus** propõe que qualquer estirpe de FCoV pode causar PIF mas que factores relacionados com o hospedeiro, como variações na resposta imunitária e factores virais, como a formação de *quasispecies*, determinam o desenvolvimento ou não de PIF (Myrrha *et al.*, 2011). Uma característica importante da patogénese do FCoV é a resistência intrínseca dos macrófagos à infecção pelo FCoV. Estudos *in vitro* demonstraram que os monócitos de diferentes gatos não têm a mesma susceptibilidade à infecção por FCoV (pela mesma estirpe de FCoV) sugerindo que factores celulares, influenciados pelo background genético e/ou estatuto de diferenciação/activação, são determinantes na ocorrência de PIF (Tekes *et al.*, 2010).

Uma resposta imunitária ineficaz contra a infecção por FCoV parece ser um factor importante na patogénese de PIF (Kiss *et al.*, 2000). Foi sugerido que animais com uma imunidade celular fraca em combinação com uma resposta imunitária humoral forte têm maior probabilidade de desenvolver PIF enquanto que gatos com forte imunidade celular podem não desenvolver a doença (Pedersen *et al.*, 1995).

Os vírus com genomas de RNA têm elevadas taxas de mutação durante o desenvolvimento e genomas virais maiores têm maiores taxas de mutação comparativamente com genomas menores (Holmes, 2009). No caso dos coronavírus, pode ocorrer um elevado número de erros no genoma, dando origem a sequências heterogéneas estritamente relacionadas denominadas *quasispecies* (Battilani *et al.*, 2003). O FCoV também pode formar *quasispecies* com heterogeneidade genética significativa, como resultado da acumulação de mutações durante a replicação viral. Estudos realizados demonstraram que a composição de *quasispecies* de FCoV num único gato podem diferir em diferentes órgãos e que a heterogeneidade do genoma de FCoV está relacionada com a severidade e forma clínica de PIF e com as lesões observadas nos órgãos dos animais afectados (Battilani *et al.*, 2003).

3.3. Entrada do FIPV nos macrófagos/ monócitos

A aquisição de tropismo para os macrófagos parece ser a etapa essencial na evolução/transformação do FECV em FIPV (Can-Sahna *et al.*, 2007). Embora o FECV se possa propagar para além do epitélio intestinal, fá-lo a níveis relativamente baixos, provavelmente devido à fraca capacidade de replicação nos monócitos e macrófagos (Meli *et al.*, 2004). O FIPV, por outro lado, replica-se em níveis elevados nos macrófagos e pode disseminar-se através de todo o organismo. Portanto, a afinidade do biótipo entérico para o epitélio intestinal e do biótipo de PIF para os macrófagos parece ser mais quantitativa do que qualitativa. Foram encontradas diferenças quantitativas nos níveis de RNA viral no sangue de gatos com e sem PIF (Kipar *et al.*, 2006). As concentrações sanguíneas crescentes de RNA viral observadas em estadios finais da doença podem indicar um aumento da replicação viral e progressão da doença. Esta capacidade de replicação viral aumentada pode ser o elemento chave da patogénese da PIF.

O FIPV entra nos monócitos/macrófagos alvo através da ligação à superfície da célula hospedeira, sendo depois internalizado através de endocitose (Van Hamme *et al.*, 2008). A ligação envolve locais específicos da proteína S e receptores específicos na superfície celular. O receptor celular do FCoV tipo II é a aminopeptidase-N que, através da ligação à proteína S medeia a internalização do vírus nas células-alvo (Tekes *et al.*, 2010). O receptor do FCoV tipo I ainda não é conhecido. Não obstante, foi identificado um co-receptor para ambos os serótipos I e II conhecido como fDC-SIGN (feline dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule 3-grabbing non-integrin receptor) (Tekes *et al.*, 2010).

Após endocitose, o vírus liberta o seu material genético na célula hospedeira através da fusão do envelope viral com a membrana do endossoma, sendo esta fusão activada por acção conjunta da descida do pH e das catepsinas B e L (Regan *et al.*, 2008).

3.4. Formação da lesão

A replicação do vírus nos macrófagos parece ser muito lenta durante as duas primeiras semanas. Dez a 21 dias após a infecção primária ocorre replicação e propagação viral, verificando-se um grande aumento nos níveis de infiltração de macrófagos infectados, coincidente com o aparecimento de anticorpos específicos para o vírus (Weiss & Scott, 1981). A recuperação, quando ocorre, provavelmente é durante o período quiescente inicial (Pedersen, 2009).

As infecções associadas a uma forte e rápida resposta imunitária celular são provavelmente contidas dentro dos linfonodos mesentéricos. Nos gatos com uma resposta imunitária celular fraca em combinação com uma forte resposta imunitária humoral, o vírus consegue proliferar de forma descontrolada dentro dos macrófagos e é transportado por estas células para os tecidos-alvo, nomeadamente os linfonodos mesentéricos, a superfície serosa do intestino, e em menor extensão a pleura e o omento. Alguns vírus também alcançam as meninges (especialmente nas superfícies caudal e ventral do cérebro), a dura-máter da espinal medula, a úvea e a retina (Weiss & Scott, 1981; Pedersen, 2009).

Ao atingirem os tecidos-alvo, os monócitos infectados aderem às células endoteliais, desenvolvendo-se uma flebite. O vírus libertado atrai anticorpos, complemento, monócitos e neutrófilos. Após a diferenciação dos monócitos em macrófagos activados, ocorre a libertação de aminas vasoactivas, factores quimiotácticos e mediadores da inflamação. As aminas vasoactivas causam retracção das células endoteliais e consequentemente um aumento da permeabilidade vascular permitindo a exsudação de proteínas plasmáticas, o que justifica o exsudado rico em proteínas que se desenvolve na forma efusiva de PIF. Por sua vez, os factores quimiotácticos atraem mais monócitos que são também infectados, promovendo a continuidade da lesão e os mediadores da inflamação activam enzimas proteolíticas que destroem os tecidos, ocorrendo a formação de Piogranulomas (Figura 2) (Hartmann, 2005).



Figura 2 – Piogranulomas na serosa do intestino e baço de um gato com a forma efusiva de PIF. (Adaptada de Pedersen, 2009).

4. RESPOSTA IMUNITÁRIA

O mecanismo através do qual os gatos desenvolvem PIF não é compreendido (Addie & Jarrett, 2006). A imunidade humoral parece não ser importante na protecção da infecção

pelo FIPV, podendo participar, pelo contrário, no estabelecimento da doença. Contudo, sabe-se que os gatinhos estão protegidos pelos anticorpos maternos pelo que é possível que alguma protecção humoral ocorra. Julga-se que a imunidade humoral associada à secreção de Ig A é importante na prevenção da infecção inicial das células epiteliais (Addie & Jarrett, 2006). O aparecimento da doença e as diferentes formas clínicas (efusiva ou não-efusiva) depende da eficiência da imunidade celular (Pedersen, 2009). Se ocorrer uma forte resposta imunitária celular logo após a infecção, a replicação viral é controlada e a doença não ocorre. Se ocorrer uma forte resposta imunitária humoral e uma resposta imunitária celular fraca ou inexistente, ocorrerá a forma efusiva de PIF. A forma não-efusiva ocorre quando existe uma forte imunidade humoral concomitantemente com uma resposta imunitária celular intermédia (Pedersen, 2014b).

4.1. Imunidade Humoral

Tal como referido anteriormente, a imunidade humoral parece aumentar a probabilidade de desenvolvimento da doença. Os anticorpos específicos para os antígenos do FIPV participam em dois processos imunes distintos. O primeiro processo consiste na potenciação da infecção dependente de anticorpos (ADEI), tendo sido demonstrado que os anticorpos anti-FCoV facilitam a entrada do vírus nos macrófagos através da formação de complexos anticorpo-vírus que são incorporados pelos monócitos/macrófagos não infectados através do receptor Fc (Hohdatsu *et al.*, 1981). Esta potenciação da infecção mediada por anticorpos é específica para anticorpos felinos e macrófagos felinos e pode envolver anticorpos para ambas as proteínas virais da membrana e da espícula (Dewerchin *et al.*, 2006). De forma diferente, foi proposto que a ADEI não ocorre em gatos com forte resposta imunitária celular, mesmo que estes possuam anticorpos anti-coronavírus felino, não desenvolvendo PIF (Takano *et al.*, 2008).

O segundo processo consiste numa reacção de hipersensibilidade do tipo III em que ocorre a deposição de imunocomplexos nas imediações das paredes vasculares. Estes imunocomplexos activam o sistema do complemento e também neutrófilos, conduzindo à libertação de mediadores inflamatórios. Esta reacção de hipersensibilidade tipo III caracteriza-se por vasculite, edema, migração de células inflamatórias e necrose (Weiss & Scott, 1981). Esta patogénese imunomediada também é suportada por considerações epidemiológicas (Addie *et al.*, 1995) e por outros achados imunopatológicos, tais como flutuações no título de

anticorpos e fracções do complemento durante o curso da infecção (Jacobse-Geels *et al.*, 1982).

4.2. Imunidade Celular

Em gatos que desenvolvem PIF, ocorre uma forte resposta humoral à infecção, com uma resposta celular inadequada pelos linfócitos T citotóxicos. A produção de anticorpos é ineficaz na eliminação do vírus e contribui para a doença imunomediada (Jacobse-Geels, 1980).

Os factores responsáveis por esta resposta imunitária fracassada são desconhecidos, mas vários mecanismos parecem estar envolvidos. Parecem envolver a resposta imunitária à infecção por FCoV, em particular, uma mudança de resposta à infecção de linfócitos Th1 para linfócitos Th2. Os linfócitos Th1 estão envolvidos na regulação da resposta celular, que é protectora contra PIF, através da secreção de IL-2, IFN- γ e TNF- β . Por sua vez, os linfócitos Th2 estão envolvidos na regulação da resposta humoral através da secreção de citocinas como a IL-4, IL-5, IL-9, IL-10 e IL-13 (Arosa *et al.*, 2007). Esta alteração resulta numa resposta humoral exagerada que não é protectora e que, na realidade, aumenta a progressão da doença.

Outro achado em gatos com PIF é a depleção linfocitária, particularmente de linfócitos T, através da sua apoptose. A depleção de linfócitos T resultante contribui para o aumento da replicação viral pois estas células são importantes na imunidade celular (Haagmans, 1996). Como os linfócitos não são células-alvo de FCoV, foi teorizado que factores secretados pelos monócitos/macrófagos, incluindo citocinas, são críticas para estes efeitos nos linfócitos, incluindo a resposta Th2 e depleção linfocitária. Deste modo, o padrão de secreção de citocinas destas células determina a magnitude e direcção da resposta imune (Kennedy & Little, 2012). Muitos estudos realizados associaram a ocorrência da doença com o padrão de expressão de citocinas dos linfócitos Th1. Em 2004, Kiss *et al.*, sugeriram que gatos que desenvolveram quer a forma efusiva ou não-efusiva da doença depois da infecção experimental expressaram elevados níveis de mRNA de TNF- α e baixos níveis de mRNA para o IFN- γ , enquanto gatos que resistiram ao desenvolvimento da doença tinham a resposta contrária. Foi demonstrado que o TNF- α é capaz de induzir a apoptose dos linfócitos T, sendo o principal agente responsável pela diminuição de linfócitos T CD4⁺ e, principalmente, de linfócitos CD8⁺ em gatos infectados com FIPV (Dean *et al.*, 2003). A produção de TNF- α

tende a favorecer a imunidade humoral (Th2), enquanto a de INF- γ favorece a imunidade Th1 (Kiss *et al.*, 2004).

O INF- γ tem sido muito discutido, devido ao seu papel no aumento da resposta celular. Num estudo realizado por Giordano & Paltrinieri (2009) que envolveu gatos naturalmente infectados com FCoV clinicamente normais e gatos com PIF efusiva demonstrou a presença de elevadas concentrações séricas de INF- γ em gatos clinicamente normais e elevadas concentrações de INF- γ nas efusões de PIF. Isto sugere que embora gatos resistentes à infecção por FCoV tenham uma forte resposta imunitária celular, como indicado pela elevada expressão de INF- γ no soro, a resposta imunitária celular também pode estar envolvida no desenvolvimento de PIF, pelo menos a nível dos tecidos, tal como evidenciado pela elevada concentração de INF- γ nas efusões (Giordano & Paltrinieri, 2009). Em particular, isto indica que a activação local de macrófagos pelo INF- γ pode estar a ocorrer, levando ao aumento da replicação viral (Berg *et al.*, 2005).

5. APRESENTAÇÃO CLÍNICA

5.1. Anamnese

Tal como referido anteriormente, a maior parte dos casos de PIF ocorre em gatos jovens, normalmente com menos de 3 anos de idade, de raças puras e geralmente provenientes de gatis de criação e abrigos (Pedersen, 2014a). Um evento stressante, tal como esterilização, adopção de um abrigo, alteração na hierarquia social ou trauma, pode preceder o início dos sinais clínicos por várias semanas. Pode haver história de diarreia, tosse ou espirros nas últimas semanas, bem como de exposição a gatos afectados com PIF, particularmente animais da mesma ninhada (Ramsey & Tennant, 2001).

5.2. Sinais Clínicos

As formas efusiva e não-efusiva de PIF, que são geralmente denominadas húmida e seca, respectivamente, raramente são manifestadas simultaneamente e, se tal ocorre, normalmente é uma transição da forma seca para a forma húmida, na fase terminal da doença crónica ou da forma húmida para a forma seca no início da doença (Pedersen, 2009).

A forma húmida corresponde à forma aguda da doença e é a mais comum, envolvendo a serosa das vísceras e o omento ou a superfície pleural. É caracterizada pela acumulação de exsudados altamente proteicos no tórax e/ou abdómen, que tipicamente contêm um baixo número de células (Wolfe & Griesemer, 1966). A forma seca caracteriza-se pelo envolvimento granulomatoso dos órgãos abdominais (particularmente rins, fígado, linfonodos mesentéricos e parede intestinal), sistema nervoso central (SNC) e olhos. Esta forma é denominada seca ou parenquimatosa porque não produz exsudado inflamatório nas cavidades corporais (Pedersen, 2009).

5.2.1. Forma húmida

Os sinais mais comuns são letargia, inapetência e perda de peso, bem como febre intermitente, não responsiva a antibióticos. Apesar disso, no início do curso da doença muitos gatos encontram-se alerta, com apetite e boa condição corporal. Alguns gatos podem apresentar polidipsia e poliúria, possivelmente secundárias a pirexia. As mucosas podem estar pálidas ou ictéricas em ambas as formas. Em última instância acaba por ocorrer perda de peso, mas alguns proprietários de gatos com distensão abdominal podem confundir a distensão com aumento de peso ou gravidez (Addie *et al.*, 2009).

A ascite é a manifestação mais óbvia da forma efusiva. De facto, a PIF é a principal causa de ascite em gatos jovens, sendo uma causa mais comum do que doença cardíaca, neoplasia, e doença hepática ou renal (Wright *et al.*, 1999). A palpação abdominal dos gatos afectados pode revelar espessamento das ansas intestinais, linfadenopatia mesentérica ou irregularidade das superfícies serosas dos órgãos abdominais. O aumento escrotal pode ocorrer devido à extensão da peritonite à túnica vaginal, que rodeia os testículos (Sigurdardottir *et al.*, 2001, citado por Kennedy & Little, 2012). Se ocorrer efusão pleural, os sinais clínicos primários incluem dispneia, taquipneia, respiração de boca aberta e mucosas cianóticas. Os sons cardíacos estarão abafados à auscultação cardíaca no caso de haver efusão pericárdica (Hartmann, 2005).

Pode haver envolvimento ocular e do SNC, embora ocorra em menos de 9% dos gatos com a forma efusiva de PIF (Pedersen, 2009).

Muitos gatos com PIF apresentam uma sinovite generalizada, devido à formação de complexos imunes ou migração dos macrófagos/monócitos infectados para o líquido sinovial, podendo apresentar sinais de febre e claudicação (Pedersen, 2009).

5.2.2. Forma seca

Os sinais clínicos da forma não-efusiva de PIF normalmente são vagos, inespecíficos e variáveis. Esta condição é uma das mais difíceis de diagnosticar. A perda de peso e inapetência são sinais clínicos comuns sendo que os outros sinais dependem dos órgãos que estão afectados. As efusões abdominais ou torácicas normalmente estão ausentes ou são demasiado escassas para serem observadas clinicamente (Addie & Jarrett, 2006).

Em 60% dos gatos com a forma não-efusiva ocorre envolvimento dos olhos e/ou do SNC (Pedersen, 2009). As manifestações oculares predominantes são uveíte, coriorretinite e irite, que se manifesta através de uma alteração na cor da íris, que geralmente fica castanha (Campbell & Reed, 1975, citado por Pedersen, 2009). Lesões focais semelhantes aos granulomas dos órgãos parenquimatosos podem aparecer na íris e distorcer a forma da pupila (Addie & Jarrett, 2006). Um grande número de macrófagos, fibrina e células inflamatórias é depositado na câmara anterior do olho, no aspecto caudal da córnea causando o aparecimento de precipitados queráticos (Figura 3) (Pedersen, 2009). Ocasionalmente visualizam-se piogranulomas na retina. Também pode ocorrer hemorragia ou descolamento da retina mas normalmente é mais um sinal de hipertensão. Sinais oculares similares também podem ser causados por infecções com *Toxoplasma*, FIV, FeLV ou infecções fúngicas sistémicas (Goodhead, 1996). A doença ocular pode ser a única manifestação de PIF em gatos afectados, ou pode haver envolvimento do SNC ou abdominal concomitantemente (Sykes, 2014).



Figura 3 – Precipitados queráticos num gato com PIF. (Adaptada de Addie *et al.*, 2009).

A PIF é a doença inflamatória mais comum do SNC de gatos (Bradshaw *et al.*, 2004). As lesões do SNC podem ser únicas ou multifocais e podem envolver a espinal medula causando paresia dos membros pélvicos, incoordenação e paralisia dos nervos ciático, trigémio, facial e braquial (Quesnel *et al.*, 1997). Também foi documentada a ocorrência de

hidrocefalia em associação com meningite, coroidite, acumulação de detritos celulares nos ventrículos e obstrução da drenagem do líquido cefalorraquidiano, podendo levar a demência, alterações comportamentais ou desordens convulsivas (Foley *et al.*, 1998; Timmann *et al.*, 2008). Sinais vestibulocerebelares tais como *nistagmus*, *head tilt* e *circling* também são causados por PIF. Os nervos cranianos também podem estar envolvidos, causando sintomas como défices visuais e perda do reflexo de ameaça, dependendo do nervo afectado (Timmann *et al.*, 2008).

O envolvimento abdominal ocorre em 40% dos animais com ou sem envolvimento ocular e do SNC, e pode incluir granulomas nos linfonodos mesentéricos, rins ou fígado, bem como aderências ao omento e ao mesentério que podem ser palpadas como massas ou visíveis através da ultrassonografia (Kennedy & Little, 2012). As lesões abdominais de PIF seca são muito maiores, em menor número e menos generalizadas do que as lesões de PIF húmida (Pedersen, 2009). Granulomas focais podem ser encontrados no íleo, junção ileocecocólica ou cólon. O envolvimento da parede do ceco e cólon com linfadenopatia ceco-cólica associada, origina uma forma distinta de PIF com sinais de colite. As lesões abdominais são frequentemente evidentes à palpação e por vezes estão associadas com dor localizada (Harvey *et al.*, 1996, citado por Pedersen, 2009).

O envolvimento torácico ocorre em cerca de 10% dos gatos com PIF seca e consiste em lesões localizadas, como pequenos granulomas que podem envolver a pleura e o parênquima pulmonar subjacente. Foi descrito envolvimento do pericárdio, o que leva a distensão do saco pericárdico, tamponamento cardíaco e insuficiência cardíaca (DeMadron, 1986, citado por Pedersen, 2009).

Manifestações raras de PIF não-efusiva incluem lesões nodulares múltiplas causadas por flebite dérmica necrosante piogranulomatosa e fragilidade da pele, e foram reportadas em gatos com PIF e infecção concomitante por FIV (Cannon *et al.*, 2005, citado por Kennedy & Little, 2012).

5.2.3. Forma intestinal

Ocasionalmente, o único órgão afectado pelos granulomas de PIF é o intestino. As lesões são mais frequentemente encontradas no cólon e junção ileocecocólica mas podem também ocorrer no intestino delgado. Os gatos podem ter vários sinais clínicos como

resultado desta lesão – normalmente obstipação, diarreia crónica ou vômito (Addie & Jarrett, 2006).

6. DIAGNÓSTICO

O diagnóstico *ante mortem* de PIF constitui um desafio, especialmente para a forma não-efusiva cujos sinais clínicos são vagos e as alterações nos parâmetros clínicos não são patognomónicas. A forma efusiva é a mais fácil de diagnosticar, mas apenas cerca de 50% dos gatos com efusões têm PIF. As doenças mais comuns que produzem efusões similares a PIF incluem a colangite linfocítica, neoplasias hepáticas e linfoma (Sparkes *et al.*, 1991, citado por Kennedy & Little, 2012). A forma efusiva de PIF e a colangite linfocítica podem ser particularmente difíceis de diferenciar pois ambas podem ter sinais clínicos similares de perda de peso, anorexia e ascite. Ambas produzem um fluido ascítico similar e demonstram alterações similares no hemograma e nas bioquímicas séricas, embora gatos com PIF tenham uma maior probabilidade de ter uma anemia não-regenerativa. Outros sinais clínicos que podem ajudar a diferenciar estas condições são por exemplo, a uveíte ou efusão torácica na PIF. Geralmente, gatos com colangite linfocítica não se encontram prostrados e ocasionalmente podem apresentar polifagia (Ramsey & Tennant, 2001).

O diagnóstico definitivo de PIF só é possível através da histopatologia e imunohistoquímica de lesões características. A obtenção de biopsias de gatos com PIF pode ser difícil ou impossível, pelo que o diagnóstico *ante mortem* frequentemente baseia-se na história clínica, achados clínicos e laboratoriais e por exclusão de outras doenças (Sharif *et al.*, 2010).

6.1. Hemograma

Os resultados do hemograma são variáveis e inespecíficos. A presença de uma anemia não-regenerativa leve a moderada é um achado frequente em gatos com PIF, mas pode ocorrer em quase todas as doenças crónicas felinas (Sparkes *et al.*, 1991). Num estudo realizado em 51 gatos com PIF confirmada através de histopatologia, observou-se que 66,7% dos gatos exibiam anemia ligeira a moderada na primeira apresentação clínica, sendo que nos últimos exames realizados antes da morte, 100% dos gatos apresentavam anemia (Tsai *et al.*, 2011).

A contagem leucocitária pode estar aumentada ou diminuída, ocorrendo com maior frequência leucocitose. Embora frequentemente se afirme que linfopénia e neutrofilia são típicas de PIF, estas alterações podem ser interpretadas como um "leucograma de stress", que pode ocorrer em muitas outras doenças sistémicas (Addie & Jarrett, 2006). A imunofenotipagem demonstra que ocorre uma depleção dos linfócitos T, sendo que uma contagem normal de linfócitos T tem um valor preditivo negativo (VPN) significativo para PIF (De Groot-Mijnes *et al.*, 2005, citado por Kennedy & Little, 2012).

É comum detectar-se uma trombocitopénia leve a moderada na forma não-efusiva da doença, o que pode reflectir a presença de coagulação intravascular disseminada (CID) ou destruição plaquetária imunomediada (Sykes, 2014).

6.2. Análises Bioquímicas

Uma característica importante de PIF é a hiperglobulinémia. Num estudo realizado verificou-se que a hiperglobulinémia ocorre em 70% dos casos de PIF não-efusiva e em 50% dos casos de PIF efusiva (Sparkes *et al.*, 1991). Contudo, mesmo com concentrações de proteínas totais normais, uma diminuição do ratio Albumina:Globulina (A:G) pode ser evidente, pois o nível de albumina permanece normal ou diminui ligeiramente e os níveis de globulinas aumentam, possivelmente através da estimulação das células B pela IL-6, que é produzida durante o processo da doença (Addie & Jarrett, 2006).

A hipoalbuminémia está frequentemente presente devido a envolvimento hepático, extravasão de fluido rico em proteínas durante a vasculite, perda urinária por glomerulopatia secundária à deposição de imunocomplexos ou a inflamação. Num estudo realizado em 1998 por Paltrinieri *et al.*, a hipoalbuminémia foi mais evidente na forma efusiva de PIF devido à perda de albumina nas efusões. Um estudo demonstrou que um ratio A:G < 0,8 indica uma elevada probabilidade de PIF (VPP de 92%); enquanto um ratio A:G > 0,8 sugere que é improvável tratar-se de PIF (VPN de 61%), ajudando a descartar um diagnóstico de PIF (Hartmann *et al.*, 2003).

Deve suspeitar-se de PIF quando a electroforese das proteínas totais revela hipergamaglobulinémia policlonal, especialmente um aumento de α_2 -globulinas e de γ -globulinas (Paltrinieri *et al.*, 1998). Raramente, ocorre gamopatia monoclonal (Taylor *et al.*, 2010). A concentração de globulinas pode diminuir numa fase terminal, e por isso gatos com

doença avançada podem ter concentrações proteicas dentro dos valores de referência (Tsai *et al.*, 2011).

Além das concentrações séricas de globulinas elevadas, a elevação de proteínas de fase aguda, como a glicoproteína ácida α_1 (AGP) e a proteína amilóide sérica A (SAA), foram observadas em gatos com PIF, pelo que a sua medição pode ser útil no diagnóstico desta doença. A AGP existe em níveis elevados em doenças inflamatórias ou infecciosas tais como linfoma e FIV, não sendo específica para PIF. Contudo, foi demonstrado que concentrações elevadas de AGP ($> 1,5$ g/L) no soro, plasma ou efusões são um bom marcador de PIF, ajudando a distinguir de outras doenças não-inflamatórias com sinais clínicos similares a PIF, tais como cardiomiopatias (Paltrinieri *et al.*, 2007).

Outras alterações bioquímicas podem ser evidentes dependendo dos órgãos envolvidos e da duração do problema clínico, não sendo especificamente úteis no diagnóstico de PIF. Contudo, podem ajudar o clínico a determinar se o tratamento está indicado. Pode ocorrer elevação das enzimas hepáticas alanina aminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina (FA) que normalmente não estão tão aumentadas como em desordens colestáticas como a colangiohepatite e lipidose hepática (Addie & Jarrett, 2006).

A PIF é a causa mais comum de soro ou plasma ictérico em gatos com menos de 3 anos de idade (Pedersen, 2009). Em 2011, num estudo realizado por Tsai *et al.*, verificou-se que 36,1% dos gatos apresentavam hiperbilirrubinémia na primeira apresentação clínica havendo uma diferença significativa entre as duas formas clínicas da doença, sendo que foi observada uma prevalência muito maior de hiperbilirrubinémia no grupo de gatos com a forma efusiva de PIF. Concluíram também que a hiperbilirrubinémia constitui um parâmetro de mau prognóstico pois 100% dos gatos com a forma efusiva apresentaram hiperbilirrubinémia nas últimas análises realizadas antes da sua morte. Ao contrário do que se julgava, a hiperbilirrubinémia não ocorre devido a doença hepática mas sim devido a microhemorragias nos tecidos e destruição extravascular de eritrócitos por células fagocíticas, como parte da vasculite e CID (Pedersen, 2009 e Pedersen, 2014a).

6.3. Análise da efusão

Os testes realizados nas efusões têm maior valor diagnóstico do que testes realizados no sangue. O fluido característico da PIF normalmente tem cor de palha, podendo variar de amarelo claro a amarelo escuro devido aos elevados níveis de bilirrubina. É viscoso devido ao elevado conteúdo proteico, podendo formar espuma quando agitado, tem uma densidade

elevada (1,017-1,047) e pode conter coágulos de fibrina. A efusão pode coagular quando refrigerada (Addie & Jarrett, 2006). Se a amostra é sanguinolenta, purulenta, quilosa ou com odor nauseabundo, então é improvável tratar-se de PIF, embora por vezes o fluido tenha uma aparência diferente, tendo sido reportados casos de PIF com efusão quilosa pura (Savary *et al.*, 2001).

A determinação da concentração proteica e a electroforese do fluido podem ser úteis no diagnóstico. A efusão na PIF é classificada como um transudado modificado a exsudado e normalmente tem um elevado conteúdo proteico ($> 3,5\text{g/dl}$), consistente com o de um exsudado, enquanto o conteúdo celular aproxima-se de um transudado puro ou modificado, contendo um baixo número de células nucleadas (< 5000 células nucleadas/ml) (Pedersen, 2014a). A citologia destas efusões é variável, mas normalmente as células predominantes são neutrófilos não-degenerados (ou ligeiramente degenerados) e macrófagos, com um número oscilante de plasmócitos e linfócitos (Sharif *et al.*, 2010).

O padrão electroforético da efusão será semelhante ao do soro correspondente constituindo uma ferramenta de diagnóstico com um elevado VPP se o ratio A:G é inferior a 0,4 e com um elevado VPN se o ratio é superior a 0,8. Um ratio A:G com valores compreendidos entre 0,4 e 0,8 é duvidoso (Shelly *et al.*, 1988, citado por Addie *et al.*, 2009). O conteúdo proteico da efusão é alto devido ao aumento dos níveis de γ -globulinas, sendo que uma percentagem destas globulinas superior a 32% é altamente indicativa de PIF. Um ratio A:G inferior a 0,4 numa efusão com mais 3,5 g/dl de proteínas totais e baixa celularidade, consistindo predominantemente em neutrófilos e macrófagos, é sugestivo de PIF efusiva (Addie & Jarrett, 2006). As principais doenças com fluidos similares são a colangite linfocítica e as neoplasias, geralmente do fígado (Addie *et al.*, 2009).

O teste de Rivalta é um teste simples e barato utilizado no diagnóstico de PIF efusiva que permite distinguir exsudados de transudados. O procedimento consiste em misturar uma gota de ácido acético a 98% com 7 a 8 mL de água destilada num tubo transparente de 10 mL, e adicionar posteriormente uma gota da efusão abdominal ou pleural ao tubo. Se a gota da efusão se dissipar na solução, o teste é negativo e não suporta o diagnóstico de PIF. Se a gota manter a sua forma, permanecendo à superfície ou movendo-se lentamente para baixo na solução, o teste é positivo e suporta o diagnóstico de PIF (Addie *et al.*, 2009). Os componentes das efusões que conduzem a uma reacção positiva no teste de Rivalta permanecem desconhecidos, mas a positividade não se deve apenas a um elevado conteúdo proteico (Fischer *et al.*, 2012). Num estudo retrospectivo realizado em 497 gatos que

apresentavam efusão, dos quais 35% tinham PIF, o teste de Rivalta teve uma sensibilidade de 91% e uma especificidade de 66%, com um VPP de 58% e um VPN de 93% (Fischer *et al.*, 2012). O VPP do teste foi superior quando gatos com linfoma e peritonite bacteriana foram excluídos ou quando considerados apenas gatos com idade ≤ 2 anos (Fischer *et al.*, 2012). Contudo, a interpretação do teste é subjectiva dado que os resultados dependem do avaliador (Pedersen, 2014a).

6.4. Análise do líquido cefalorraquidiano e do humor aquoso

A análise do líquido cefalorraquidiano (LCR) e do humor aquoso de gatos com sinais neurológicos e oculares de PIF tem importância diagnóstica. A análise do LCR revela tipicamente uma elevada concentração proteica ($> 200\text{mg/dL}$), sendo que os valores normais são inferiores a 25mg/dL e uma marcada pleocitose (> 100 células nucleadas/mL) consistindo principalmente em neutrófilos, macrófagos e linfócitos (Rand *et al.*, 1994, citado por Kennedy & Little, 2012). Achados similares podem ser observados no humor aquoso de gatos com uveíte (Sherding, 2006).

Contudo, a presença de valores normais na avaliação do LCR não permite descartar a doença, pois em alguns o conteúdo proteico e as contagens de leucócitos no LCR estão normais (Foley *et al.*, 1998; Boettcher *et al.*, 2007). Pelo contrário, o LCR de gatos com outras doenças virais normalmente tem uma concentração proteica inferior a 100 mg/dl e uma contagem de leucócitos inferior a 50 células/ml (Pedersen, 2009).

6.5. Imagiologia

A imagiologia permite descartar outras doenças, identificar os órgãos que estão envolvidos na PIF e também facilita a identificação de efusões e obtenção de fluido e amostras de biopsia.

A radiografia torácica pode revelar efusão pleural, aumento da silhueta cardíaca em gatos com efusão pericárdica e nódulos pulmonares ou infiltrados peribrônquicos em gatos com pneumonia piogranulomatosa. As radiografias abdominais podem mostrar uma perda do detalhe peritoneal ou retroperitoneal devido a efusão peritoneal, hepatomegália, esplenomegália e renomegália (Sharif *et al.*, 2010).

Os achados ultrassonográficos abdominais na PIF incluem a presença de fluido peritoneal anecoico ou moderadamente ecogénico (Figura 4); linfonodos abdominais hipoecóicos e aumentados; aumento e hipoecogenicidade focal ou difusa do fígado e baço; e/ou espessamento de todas as camadas da parede do intestino. Através do diafragma pode visualizar-se efusão pleural (Lewis & O'Brien, 2010). Em 2010, foi realizado um estudo retrospectivo de achados ultrassonográficos abdominais em 16 gatos com PIF, sendo que 75% tinham efusão abdominal (Lewis & O'Brien, 2010). A efusão típica observada neste estudo era anecoica, sendo consistentemente reportada na presença de transudados puros ou modificados, mas também se observaram algumas efusões ecogénicas. Renomegália também foi um achado frequente neste estudo, ocorrendo em 44% dos gatos, e um terço apresentou hipoecogenicidade subcapsular. Cerca de 80% dos gatos tinham um fígado de tamanho normal e 69% dos fígados examinados tinham uma ecogenicidade normal. Na maioria dos casos de PIF (88%) o baço tinha uma aparência ultrassonográfica normal. Em 56% dos casos foi detectada linfadenopatia abdominal, incluindo linfadenopatia mesentérica, esplénica, hepática e sublombar. Assim, concluiu-se que a observação de sinais clínicos compatíveis com PIF e detecção de alterações ultrassonográficas tais como renomegália, contorno renal irregular e hipoecogenicidade subcapsular, linfadenopatia abdominal, efusão peritoneal ou retroperitoneal e alterações difusas nos intestinos deve fazer aumentar o índice de suspeita de PIF. Contudo, uma ultrassonografia abdominal normal não exclui o diagnóstico de PIF (Lewis & O'Brien, 2010).

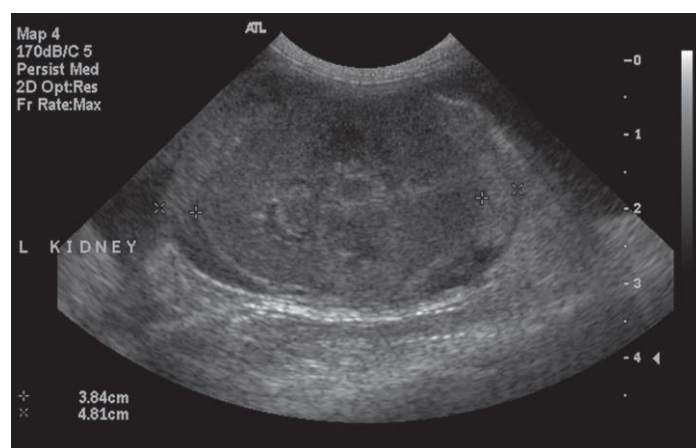


Figura 4 – Ultrassonografia abdominal de um gato de 1 ano de idade com PIF. Observa-se irregularidade renal e fluido subcapsular, bem como efusão peritoneal moderada. (Adaptada de Sykes, 2014).

A ressonância magnética é útil para confirmar a presença de doença inflamatória neurológica (Negrin *et al.*, 2007). Em 1998, Foley *et al.* demonstrou aumento do contraste nas regiões periventriculares bem como dilatação ventricular e hidrocefalia.

6.6. Testes serológicos

Os testes serológicos para o diagnóstico de PIF têm sido frequentemente criticados pois apenas detectam anticorpos anti-coronavírus e não reflectem o biótipo do vírus. Contudo, têm um papel importante no diagnóstico e manejo de PIF quando utilizadas as metodologias apropriadas e os resultados bem interpretados. Assim, a realização de testes serológicos tem como indicações (Ramsey & Tennant, 2001):

1. Diagnóstico de gatos doentes com suspeita de PIF:

Os testes serológicos são muito úteis em gatos com suspeita de PIF mas têm limitações pois muitos gatos saudáveis ou com outras doenças podem ser seropositivos e gatos com PIF efusiva podem ter títulos baixos de anticorpos ou serem seronegativos. Nos casos da forma não-efusiva de PIF, a serologia pode ser usada para descartar PIF no caso de não serem detectados anticorpos ou serem detectados apenas títulos baixos pois normalmente na forma não-efusiva existe um elevado título de anticorpos (Ramsey & Tennant, 2001).

Assim, os testes serológicos apenas devem ser realizados para diagnosticar PIF em conjunto com uma história e sinais clínicos compatíveis e detecção no sangue ou nas efusões de elevadas concentrações de globulinas e um ratio A:G baixo (Ramsey & Tennant, 2001).

2. Testagem de gatos saudáveis que tenham contactado com um caso de PIF ou com um excretor de FCoV

Pode ser realizada quando o proprietário pretende saber o prognóstico de um gato exposto ao FCoV ou quando o proprietário pretende obter outro gato e precisa de saber se o gato exposto é um excretor de FCoV. É importante informar o proprietário que é muito provável que o gato seja seropositivo, pois 95% a 100% dos gatos expostos a FCoV ficam infectados e seroconvertem em aproximadamente 18 a 21 dias após a exposição. No entanto, a seroconversão não é necessariamente um indicador de mau prognóstico pois menos de 10% dos gatos infectados com FCoV desenvolvem PIF sendo que a maioria eventualmente elimina o vírus e torna-se seronegativa (Ramsey & Tennant, 2001).

Idealmente, os gatos seropositivos devem ser separados dos gatos seronegativos e voltarem a ser testados 3 a 6 meses depois para determinar se se tornaram seronegativos (Ramsey & Tennant, 2001).

3. Requisição de testagem pelo criador

Muitos criadores de gatos requerem a testagem de anticorpos anti-coronavírus antes do acasalamento. No caso de o gato ser seronegativo pode ser cruzado de forma segura com outro gato seronegativo. Se for seropositivo pode ser cruzado com outro gato seropositivo, devendo realizar-se o desmame precoce e isolamento dos gatinhos resultantes para prevenir que sejam infectados (Addie *et al.*, 2009)

4. Testagem de um gatil para FCoV

Para determinar se o FCoV é endémico, basta testar aleatoriamente 3 ou 4 gatos que vivam juntos pois o vírus é altamente contagioso (Ramsey & Tennant, 2001).

5. Testagem de um gato para introdução num gatil livre de FCoV

Gatos seropositivos nunca devem ser introduzidos, para segurança dos outros gatos, devendo ser assumido que são excretores de FCoV. Estes gatos seropositivos podem ser isolados e novamente testados em intervalos de 3-6 meses até se tornarem seronegativos (Addie & Jarrett, 2006).

A detecção de anticorpos para FCoV pode ser realizada utilizando os métodos de imunofluorescência indirecta (IFI), *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) ou neutralização viral (Pratelli, 2008). Pratelli (2008) considera o método ELISA o mais sensível mas Pedersen (2009) considera que a maior parte dos testes serológicos são equivalentes se realizados adequadamente. Recentemente, concluiu-se que os testes imunocromatográficos rápidos são os melhores para obtenção de resultados rápidos (10-15 minutos); os testes ELISA e IFI são os mais indicados para a obtenção de títulos de anticorpos e para trabalhar na presença do vírus; e o teste ELISA e de imunocromatografia rápida Anigen são os melhores quando utilizadas pequenas quantidades de amostra (Addie *et al.*, 2014).

É muito importante recorrer-se a um laboratório de diagnóstico de confiança que meça quantitativamente os níveis de títulos de anticorpos anti-coronavírus e evitar laboratórios que usam testes rápidos (ELISA) que apenas fornecem resultados positivos ou

negativos sem a quantificação dos títulos de anticorpos, pois estes testes dão resultados menos consistentes que os testes serológicos tradicionais (Hartmann, 2005).

Está disponível comercialmente um teste ELISA para detecção de anticorpos para a proteína 7b, que tem sido comercializado como "Teste específico para PIF". A proteína 7b é uma proteína viral não-estrutural que é expressa apenas quando ocorre mutação do vírus, pelo que se concluiu que gatos com elevadas concentrações de anticorpos para a proteína 7b estariam infectados com o biótipo viral de PIF (Pedersen, 2009). Contudo, Kennedy *et al.* (2008) demonstraram que anticorpos específicos para a proteína 7b, embora consistentemente presentes em elevadas concentrações em gatos com PIF, também estão presentes em gatos saudáveis com FCoV (Kennedy *et al.*, 2008). Assim, concluiu-se que a mutação deste gene não é específica para PIF e este teste não tem vantagem relativamente aos métodos serológicos convencionais (Pedersen, 2014).

Embora uma elevada titulação de anticorpos seja consistente com o diagnóstico de PIF, não é confirmatória porque gatos que foram expostos a estirpes avirulentas de FCoV apresentam frequentemente títulos de anticorpos de 1:100 até 1:400 (Pedersen *et al.*, 2008). Contudo, a probabilidade de títulos de anticorpos positivos estarem associados a PIF aumenta com a sua magnitude, sendo que poucos gatos saudáveis têm titulações de 1:1600 (Hartmann *et al.*, 2003). Segundo Addie *et al.* (2009), foram mortos mais gatos como resultado da interpretação errada dos testes de anticorpos de FCoV do que pela doença em si.

A serologia apenas deve ser usada como uma ajuda para incluir ou excluir a possibilidade de PIF, e o diagnóstico de PIF nunca deve ser feito apenas com base no título de anticorpos (Addie & Jarrett, 2006). Alguns gatos com PIF têm baixos títulos de anticorpos ou são seronegativos, tal como em casos fulminantes de PIF, em gatos com doença avançada (devido a falha na produção de anticorpos com severa imunossupressão) ou em casos com grandes quantidades de vírus (que se ligam aos anticorpos, tornando-os indetectáveis nos testes serológicos) (Addie & Jarrett, 2006).

Os anticorpos também podem ser quantificados nas efusões, LCR e humor aquoso da câmara anterior do olho. Hartmann *et al.* (2003), verificou que a titulação positiva de anticorpos anti-coronavírus em efusões mostrou um VPP para PIF de 90% e um VPN de 79%, sugerindo que a testagem do fluido pode ter maior valor diagnóstico que a testagem no soro. A presença de anticorpos IgG anti-coronavírus no LCR correlacionou-se de forma positiva com o diagnóstico de PIF num estudo realizado por Foley *et al.* em 1998, sendo que estes autores descobriram que os indicadores *ante mortem* de PIF neurológica mais úteis eram uma

titulação positiva de anticorpos anti-coronavírus no LCR, uma elevada concentração sérica de proteínas totais e achados sugestivos de PIF na ressonância magnética. Pelo contrário, Boettcher *et al.* (2007) questionou o valor diagnóstico de títulos positivos de anticorpos anti-coronavírus no LCR pois apenas detectaram anticorpos IgG anticoronavírus no LCR em gatos com títulos de anticorpos séricos IgG altos, tendo-se verificado que a positividade do teste está correlacionada com os títulos de IgG séricos e não com outros parâmetros do LCR.

6.7. Diagnóstico Molecular utilizando RT-PCR

Tal como os testes serológicos, os métodos moleculares de detecção viral também têm uma falta de especificidade para o FIPV. Isto é, a descoberta do vírus através da detecção de antígenos (ex: imunofluorescência dos macrófagos do fluido ascítico) ou da detecção genética (ex: RT-PCR do sangue) é consistente com o diagnóstico de PIF mas não necessariamente confirmatório (Sykes, 2012).

Existem vários ensaios de RT-PCR para coronavírus, variando na região amplificada do genoma. (Sharif *et al.*, 2009).

A RT-PCR não diferencia entre estirpes virulentas e avirulentas. Além disso, estirpes avirulentas podem ser encontradas no sangue e tecidos de gatos que não têm PIF, e por isso a descoberta do vírus em locais fora do tracto gastrointestinal não é útil para o diagnóstico (Gunn-Moore *et al.*, 1998; Kipar *et al.*, 2010). A RT-PCR é utilizada para a detecção do vírus em diferentes amostras tais como sangue, fluidos, efusões, tecidos ou fezes.

Geralmente, amostras de efusões e de tecidos têm maior probabilidade de ser positivas do que amostras de sangue em gatos com PIF. O vírus pode ser detectado em vários tecidos sendo que amostras provenientes do fígado (48%) e baço (42,3%) têm maior probabilidade de conter quantidades detectáveis de FCoV do que amostras provenientes dos rins (21,1%) (Li & Scott, 1994, citado por Sharif *et al.*, 2010).

O RT-PCR fecal pode ser usado para documentar a excreção fecal de FCoV, especialmente em gatos saudáveis como componente de um programa de controlo de FCoV em gatis. Contudo, para identificar excretores crónicos de FCoV é necessário realizar testes RT-PCR fecais mensalmente e obter resultados positivos durante nove meses consecutivos. A monitorização da excreção salivar do vírus não é útil pois é interrompida muito antes do cessamento da excreção do vírus nas fezes. São encontradas menores quantidades do vírus no

LCR e urina, por isso estas amostras não são recomendadas para a testagem de RT-PCR (Addie & Jarret, 2006).

6.8. Histopatologia

Neste momento, o *gold standard* do diagnóstico de PIF continua a ser a histopatologia e análise imunohistoquímica dos órgãos afectados (Hartmann *et al.*, 2003; Addie *et al.*, 2004).

À necropsia, os achados em gatos com PIF incluem quantidades variáveis de efusão pleural, pericárdica e/ou peritoneal, podendo haver adesões de fibrina. Os órgãos abdominais podem estar aumentados ou irregulares. Granulomas aparecem como lesões nodulares brancas, creme ou amarelas nas superfícies serosas e nos órgãos parenquimatosos como os pulmões, baço, rins, pâncreas e fígado. Piogranulomas podem ser visualizados como lesões miliares ou podem ter vários centímetros de diâmetro. A linfadenomegália torácica e/ou abdominal é um achado comum. Podem estar presentes massas no intestino ou haver espessamento difuso ou focal da parede intestinal. O exame do encéfalo pode revelar a presença de exsudado fibrinoso associado às meninges, com ou sem dilatação ventricular e hidrocefalia (Benetka *et al.*, 2004).

Os achados histopatológicos característicos de PIF são lesões granulomatosas vasculares e perivasculares, envolvendo principalmente vasos pequenos e médios. A composição celular destas lesões é principalmente de monócitos e macrófagos com uma minoria de neutrófilos, podendo ser encontrados linfócitos B e plasmócitos na periferia das lesões. Os linfócitos T são poucos. Piogranulomas estão principalmente associados com necrose fibrinosa e podem ser grandes e consolidados ou pequenos e numerosos. Acumulações focais de células inflamatórias e lesões proliferativas necróticas são típicas de lesões granulomatosas da PIF seca (Gibson & Parry, 2007).

6.9. Imunofluorescência directa e Imunohistoquímica

Os métodos de detecção viral incluem a detecção intracelular do antígeno FCoV nos macrófagos em efusões de gatos com PIF efusiva através dos métodos de imunoperoxidase ou imunofluorescência directa (IFD) ou nas amostras de tecidos através de imunohistoquímica (IHQ) (Hartmann *et al.*, 2003). O método de IFD é mais sensível do que método de

imunoperoxidase mas requer congelação enquanto a imunoperoxidase pode ser realizado em tecidos fixados em formalina (Pedersen, 2014).

Estes métodos não permitem diferenciar os dois biótipos de FCoV mas como o FIPV se replica mais activamente, apenas em casos de PIF haverá antígeno viral suficiente nos macrófagos para resultar numa coloração imunofluorescente positiva (Paltrinieri *et al.*, 1999). As concentrações de antígeno viral são mais baixas em lesões de gatos com PIF seca do que nos gatos com PIF húmida (Pedersen, 1995). Estudos previamente publicados em que se investigou a exactidão diagnóstica do método de Imunofluorescência directa em amostras clínicas reportaram uma especificidade de 100% e uma sensibilidade de 57-95% (Paltrinieri *et al.*, 1999; Hartmann *et al.*, 2003). Resultados falso-negativos podem ocorrer devido ao baixo número de macrófagos em esfregaços de efusões e pela formação de complexos imunes com os anticorpos (Hartmann *et al.*, 2003).

A crença generalizada de que o teste de IFD poderia ser utilizado como teste confirmatório em amostras de efusões *ante mortem* foi posta em causa num estudo realizado por Held *et al.* (2011) em que foi reportada uma especificidade de 96% para IFD.

Em 2013, Litster *et al.* reportou que o teste de IFD realizado *ante mortem* a 17 gatos com PIF foi positivo em todos os casos confirmados *post mortem* através de histopatologia (10 casos); porém dos 7 casos em que a análise histopatológica não foi compatível com PIF, 2 testaram positivo na IFD. Neste estudo, a sensibilidade do teste de IFD foi de 100%, a qual foi mais alta do que nos estudos anteriores realizados e a especificidade de 71,4%.

A imunohistoquímica também é usada para detectar o antígeno FCoV e também tem um VPP de 100% quando positiva (Tammer *et al.*, 1995). Contudo, a recolha de biópsias *ante mortem* normalmente exige o uso de métodos invasivos, tais como laparotomia ou laparoscopia, não constituindo geralmente uma opção devido aos riscos associados à cirurgia em gatos doentes (Addie *et al.*, 2004). A recolha de amostras utilizando técnicas minimamente invasivas, tais como PAAF ou agulhas de biópsia Tru-cut reduz os riscos anestésicos mas estes testes apresentam uma baixa sensibilidade (Giordano *et al.*, 2005).

A detecção do antígeno coronavírus nas efusões de PIF é muito específica mas menos sensível que a detecção de antígenos virais em lesões parenquimatosas características de PIF. A especificidade da IHQ depende dos anticorpos policlonais ou monoclonais usados e da localização característica do antígeno FIPV dentro dos macrófagos (Tammer *et al.*, 1995; Paltrinieri *et al.*, 1998). A sensibilidade do teste depende da existência de macrófagos infectados nos tecidos ou nas células dos esfregaços. Por esta razão, numa biópsia aleatória do

fígado ou rins de gatos com PIF muitas vezes não se consegue demonstrar a presença do antígeno por IHQ (Giordano *et al.*, 2005).

7. TRATAMENTO

A PIF é uma doença para a qual ainda não existe cura, sendo o objectivo do tratamento prolongar o tempo de vida e melhorar a qualidade de vida do paciente. O tratamento não tem demonstrado diminuir a elevada taxa de mortalidade associada à PIF ou retardar a progressão da doença (Sykes, 2014).

No passado, o tratamento focava-se apenas em duas áreas: supressão da resposta imunitária ou modulação da resposta imunitária (Kennedy & Little, 2012). O tratamento imunossupressor geralmente envolve a administração de fármacos imunossupressores para inibir a resposta imune tais como a prednisolona ou ciclofosfamida, enquanto o tratamento imunomodulador tenta aumentar a resposta mediada por células através de citocinas como o interferão (Hartmann & Ritz, 2008). Actualmente, a terapêutica baseia-se no tratamento de suporte combinado com o uso de vários fármacos imunomoduladores, imunossupressores e antivirais (Sherding, 2006).

O tratamento oferece melhores expectativas em gatos que se encontram em bom estado físico, a comer com normalidade, activos, sem sintomatologia neurológica e que não apresentem simultaneamente FeLV (Addie *et al.*, 2004).

7.1. Tratamento imunossupressor

A prednisolona é o principal fármaco imunossupressor usado no tratamento de PIF, constituindo o fármaco mais eficaz conhecido, fazendo o animal sentir-se melhor e estimulando o apetite. A prednisolona suprime a resposta humoral e celular e deve ser administrada por via oral, numa dose de 2-4 mg/kg SID, com uma redução gradual da dose a cada 10-14 dias até atingir a dose óptima para o animal, que é determinada por uma resposta continuada ao tratamento. Embora não tenham sido realizados estudos clínicos controlados comparando o tratamento com prednisolona com o uso de um placebo, o tratamento com prednisolona (2-4 mg/kg PO SID) está associado a uma remissão transitória parcial ou completa em muitos gatos (Ritz *et al.*, 2007). A prednisolona tem a vantagem de também ser o tratamento para a colangite linfocítica, condição que pode ser confundida com PIF (Addie &

Jarrett, 2006). A prednisolona nunca deve ser usada em gatos com peritonite séptica ou pleurisia, daí a importância da citologia no diagnóstico de PIF.

Alguns gatos melhoram transitoriamente com terapia médica paliativa incluindo cuidados de suporte (ex. fluidoterapia) e uma alta dose de corticosteróides em combinação com outros fármacos imunossupressores como o clorambucilo ou a ciclofosfamida (Sherding, 2006). Os corticosteróides e estes fármacos citotóxicos não têm efeito sobre o vírus, mas devido aos seus efeitos anti-inflamatórios e imunossupressores conseguem controlar a propagação da reacção inflamatória imunomediada que ocorre na PIF. No entanto, estes fármacos podem afectar negativamente a imunidade celular mediada pelos linfócitos T e macrófagos e portanto têm também potencial para promover a infecção viral. Se não se observar resposta ao tratamento nas primeiras 2 a 4 semanas, deve considerar-se a terapia ineficaz e modificá-la ou descontinuí-la. Se ocorrer uma resposta positiva, o tratamento deve continuar por tempo indefinido (Addie & Jarrett, 2006).

Alguns investigadores relataram que a ciclosporina A consegue suprimir a replicação genómica e transcrição de muitos vírus (Billich *et al.*, 1995). Segundo Addie *et al.* (2009), o seu uso não é recomendado pois está mais dirigida para a imunidade celular do que para a imunidade humoral. Contudo, num estudo realizado em 2012 por Tanaka *et al.*, foi demonstrado que a ciclosporina A inibe a replicação intracelular do genoma de FIPV e a expressão da proteína viral *in vitro*. Contudo, permanece ainda por determinar a sua utilidade no tratamento de PIF *in vivo*.

7.2. Tratamento imunomodulador

Os imunomoduladores têm como função estimular a função imunitária comprometida. Teoricamente, a estimulação imunitária inespecífica pode potenciar as consequências imunomediadas de PIF.

A tilosina, um antibiótico pertencente ao grupo dos macrólidos mas que também tem actividade imunomoduladora foi usada em 10 gatos numa dose de 22mg/kg/dia tendo produzido remissão temporária dos sinais clínicos, sendo que o diagnóstico de PIF não foi confirmado em nenhum destes casos (Robison, 1968, citado por Hartmann & Ritz, 2008).

A promodulina foi utilizada em 52 gatos com suspeita de PIF, tendo estes respondido favoravelmente ao tratamento com rápida remissão dos sinais clínicos (anorexia, febre e efusão). Contudo, o diagnóstico de PIF não foi confirmado, não existia grupo controlo e os

gatos incluídos neste estudo não foram seguidos a longo prazo (Ford, 1986, citado por Hartmann & Ritz, 2008).

Muitos tratamentos igualmente duvidosos foram usados no tratamento de PIF, quase todos em estudos realizados com um número insuficiente de pacientes, inadequada documentação da infecção ou sem grupo controlo placebo (Hartmann, 2008).

O poliprenil imunoestimulante é um composto biológico veterinário que tem vindo a ser usado em investigação e que, *in vitro*, regula positivamente a síntese de citocinas TH1 e tem propriedades antivirais (Sykes & Papich, 2014). Este fármaco foi testado em três gatos com a forma seca de PIF tendo demonstrado eficácia no prolongamento do tempo de vida e na diminuição dos sinais clínicos (Legendre & Bartges, 2009). Neste estudo, dois gatos com PIF foram tratados de forma contínua com uma dose de 3mg/kg PO 2-3 vezes por semana, e sobreviveram durante 2 anos após o diagnóstico, enquanto um terceiro gato teve uma resposta inicial mas acabou por morrer alguns meses após os donos terem descontinuado a terapia.

São necessários estudos clínicos controlados para avaliar a eficácia e segurança destes tratamentos (Pedersen, 2014).

7.3. Tratamento antiviral

A aglutinina de *Galanthus nivalis* usada em conjunto com o nelfinavir, demonstraram inibir a replicação de FCoV (Hsieh *et al.*, 2010). Contudo, quando usadas isoladamente, não demonstraram efeito inibitório. Não foram publicados mais estudos acerca do uso destes fármacos em gatos com PIF mas Pedersen (2014) questiona o efeito anti-viral da aglutinina *in vivo* e o facto de os inibidores de proteases como o nelfinavir serem normalmente vírus-específicos.

A cloroquina, usada no tratamento da malária, inibiu a replicação de FIPV *in vitro* e tem propriedades anti-inflamatórias (Takano *et al.*, 2013). O estudo *in vivo* utilizando gatos com PIF induzida experimentalmente mostrou melhores resultados nos grupos de gatos tratados com cloroquina do que nos grupos de gatos que não foram tratados com este fármaco. Contudo, os níveis de ALT aumentaram nos grupos tratados com cloroquina, indicando um efeito tóxico desfavorável (Pedersen, 2014).

Embora o interferão recombinante felino e humano tenha mostrado inibir a replicação do coronavírus *in vitro*, estudos *in vivo* não demonstraram qualquer efeito no tempo de sobrevivência ou qualidade de vida (Kennedy & Little, 2012).

O Interferão ω recombinante felino deve ser administrado a uma dose de 10^6 UI/kg SC a cada dois dias até à remissão dos sinais clínicos e depois uma ou duas vezes por semana (Addie & Jarrett, 2006). Os custos associados a este tratamento são elevados. Foi realizado um estudo não controlado em 12 gatos com o objectivo de avaliar a eficácia do IFN ω recombinante felino no tratamento de PIF. O protocolo consistiu na administração subcutânea de IFN ω recombinante felino (10^6 UI/kg) de dois em dois dias até remissão dos sinais clínicos e depois uma vez por semana juntamente com a administração de 1mg/kg de dexametasona por via intratorácica, em caso de emergência respiratória seguida pela administração oral de prednisolona (2mg/kg PO SID até atingir 0,5mg/kg de 2 em 2 dias). Neste estudo, 33,3% dos gatos alcançaram a remissão completa durante mais de 2 anos, 33,3% alcançaram a remissão parcial mas morreram após 2 a 5 meses e 33,3% não responderam ao tratamento e morreram em menos de um mês (Ishida *et al.*, 2004). Contudo, num grande ensaio realizado incluindo um grupo controlo com placebo, não se encontrou diferença estatística significativa no tempo de sobrevivência de gatos tratados com interferão ω recombinante felino versus placebo (Ritz *et al.*, 2007).

O uso parenteral de elevadas doses de Interferão α recombinante humano (10^4 a 10^6 UI/kg IM) não parece ser eficaz na PIF e não é adequado para tratamento a longo prazo pois os gatos desenvolvem anticorpos contra a proteína humana após 3 a 7 semanas que inibem a actividade do fármaco (Weiss *et al.*, 1990). A administração oral de baixas doses de Interferão α recombinante humano (30 UI PO SID durante 7 dias em semanas alternadas), demonstrou aumentar o apetite e o bem-estar com efeitos secundários mínimos (Kennedy & Little, 2012).

7.4. Tratamento de suporte

As seguintes medidas podem melhorar a qualidade de vida e possivelmente o tempo de sobrevivência de gatos com PIF (Sykes, 2014):

- Minimizar a exposição a factores causadores de stress;
- Realizar a drenagem da efusão conforme necessário para aliviar a dispneia;
- Administrar fluidoterapia parenteral;
- Tratamento nutricional de suporte através da colocação de um tubo de alimentação;
- Administrar aspirina para inibir a agregação plaquetária causada pela vasculite;
- Administrar antibióticos de largo espectro para controlar infecções bacterianas secundárias. O seu uso é controverso pois pode apenas promover infecções

oportunistas com bactérias resistentes e alguns autores dizem que o seu uso não se justifica a não ser que ocorra neutropénia devido a terapia com fármacos citotóxicos;

- Tratar a uveíte anterior com corticosteróides tópicos e atropina;
- Realizar transfusões sanguíneas em casos de anemia não regenerativa severa.

7.5. Outros tratamentos

7.5.1. Vitaminas e antioxidantes

As vitaminas do complexo B constituem um bom estimulante do apetite e a dosagem que está recomendada pelo fabricante para crianças pode ser usada em gatos (Addie & Jarrett, 2006). Contudo, segundo Pedersen (2009) a administração de vitaminas e antioxidantes não tem efeitos benéficos.

7.5.2. Esteróides anabólicos

Os esteróides anabólicos são usados para aumentar o apetite e diminuir o catabolismo para manutenção da condição corporal especialmente se houver evidência de falha renal. Assim, pode administrar-se a cada 21 dias Laurato de Nandrolona (Laurabolin®) (Addie & Jarrett, 2006).

7.5.3. Inibidores da tromboxano-sintetase

O hidróclorido de Ozagrel suprime a agregação plaquetária através da inibição da produção de tromboxano A₂, um forte agente agregador plaquetário. Watari *et al.* (1998) publicaram um case report em que 2 gatos foram tratados com sucesso com hidróclorido de ozagrel (5-10mg/kg BID) juntamente com prednisolona (2mg/kg SID), sendo necessários estudos controlados para comprovar a sua eficácia.

7.5.4. Anticorpos monoclonais anti- TNF- α felino

Num estudo recente, investigou-se a aplicação terapêutica na PIF de anticorpos monoclonais anti-TNF- α felino, tendo-se verificado a neutralização do TNF- α inibindo as suas acções, nomeadamente, a apoptose dos linfócitos T, a expressão da aminopeptidase N

nos macrófagos e o aumento da taxa de sobrevivência de neutrófilos em gatos com PIF (Doki *et al.*, 2013).

7.5.5. Pentoxifilina

A pentoxifilina é uma metilxantina derivada da teobromina que inibe várias interleucinas, o TNF- α e o fibrinogénio, moléculas que contribuem para o desenvolvimento da exuberante resposta inflamatória exsudativa em gatos com PIF (Bachet *et al.*, 1989).

De acordo com alguns especialistas em medicina felina, a pentoxifilina permite prolongar o tempo de vida dos gatos com PIF (Norris, 2007).

Contudo, a propentofilina, uma outra metilxantina que também inibe as interleucinas e o TNF- α , não demonstrou melhorar nem prolongar o tempo de vida, não sendo uma opção terapêutica eficaz em gatos com PIF (Fischer *et al.*, 2011).

7.6. Monitorização do tratamento e Prognóstico

Para monitorizar a resposta ao tratamento e a evolução da doença, devem ser realizadas verificações regulares (semanais ou quinzenais) do hematócrito, globulinas, *ratio* A:G, AGP e do peso do gato. No caso de o animal estar a melhorar, esses exames podem depois ser realizados apenas mensalmente. Não é necessário medir o título de anticorpos mais do que uma vez por mês pois não são detectáveis diferenças num período de tempo inferior. A AGP deve ser o primeiro parâmetro a diminuir se o tratamento estiver a ter um efeito positivo. Outros sinais que indicam uma resposta positiva ao tratamento incluem a diminuição dos níveis de globulinas, aumento do *ratio* A:G e do hematócrito, o aparecimento de reticulócitos em esfregaços sanguíneos e ganho de peso (Addie & Jarrett, 2006).

Os factores de prognóstico negativos são a hiperbilirrubinémia, a presença de efusão e a linfopénia (Addie *et al.*, 2009). Um estudo recente demonstrou que, o hematócrito, a contagem de linfócitos e as concentrações de albumina sérica, sódio, potássio e de globulinas diminuíram com a progressão da doença, enquanto que a concentração de bilirrubina total e a das enzimas hepáticas aumentaram (Tsai *et al.*, 2011). A eutanásia deve ser considerada em gatos com doença severa que não respondem ao tratamento num período de 3 dias (Addie *et al.*, 2009).

No entanto, o prognóstico para gatos com PIF é sempre mau pois trata-se de uma doença invariavelmente fatal. Quase todos os gatos com efusão na altura do diagnóstico morrem dentro de dias a semanas. Alguns casos podem desenvolver a forma não-efusiva de PIF depois da resolução da efusão com tratamento. Gatos com PIF não-efusiva podem sobreviver até 1 ano com tratamento, desde que a doença seja diagnosticada numa fase inicial e antes de serem evidentes sinais neurológicos ou anorexia (Ramsey & Tennant, 2001).

Recentemente, descreveram-se tempos de sobrevida médios de 21 dias na forma efusiva da doença (intervalo de 1 a 171 dias), 38 dias na forma não-efusiva e 111 dias para gatos com doença mista (intervalo 7 a 477 dias) (Tsai *et al.*, 2011).

8. PREVENÇÃO

A prevenção da PIF é um desafio pois a única forma eficaz de controlo é evitar a infecção com FCoV. A natureza disseminada do vírus e a sua fácil transmissão, bem como a existência de excretores crónicos, torna difícil o seu controlo, sobretudo em ambientes com muitos gatos.

8.1. Vacinação

Em 1991 foi comercializada nos Estados Unidos da América uma vacina para o coronavírus felino, a qual não se encontra disponível em Portugal. A Primucell® trata-se de uma vacina atenuada administrada por via intranasal que contém uma estirpe mutante de FIPV tipo II termo-sensível, o que permite a sua replicação às temperaturas relativamente baixas do tracto respiratório superior felino, mas não à temperatura corporal sistémica. A restrição da estirpe vacinal ao tracto respiratório superior permite que os gatos vacinados desenvolvam uma resposta imunitária humoral local na mucosa da orofaringe (mediada pela Ig A), bem como uma resposta imunitária celular. A vacina só pode ser administrada a partir das 16 semanas de idade, pondo em causa a sua utilidade em situações de maior risco, tais como gatinhos que nascem em locais onde o vírus é endémico, onde a infecção ocorre frequentemente entre as 4 e as 6 semanas de idade (Addie & Jarrett, 1992).

As importantes limitações que esta vacina tem, tais como a especificidade do serótipo, a interferência com os anticorpos maternos, a necessidade de adiar a vacinação até

pelo menos às 16 semanas de idade e a eficácia relativamente baixa faz com que esta vacina não esteja recomendada nos protocolos de vacinação (Day *et al.*, 2010).

Recentemente, Bálint *et al.* (2013) desenvolveram uma vacina baseada num par de vírus recombinantes derivados da estirpe DF2 do FIPV tipo II, tendo sido utilizada uma estirpe avirulenta e outra de baixa virulência. Contudo, a vacinação com a estirpe de baixa virulência não conferiu protecção aos animais e a vacinação com a estirpe avirulenta induziu ADE. Assim, apesar das numerosas tentativas realizadas nas últimas décadas, actualmente ainda não se conseguiu desenvolver uma vacina viva modificada ideal para o FIPV (Bálint *et al.*, 2013)

8.2. Controlo de PIF em situações específicas

Controlo de PIF em gatis

O controlo da infecção por FCoV em gatis, abrigos e casas com muitos gatos tem como objectivo limitar a propagação do vírus, minimizar a exposição e reduzir o stress. A infecção com FCoV é ubiqüitária e por isso a erradicação completa raramente é viável e mesmo que a erradicação seja bem sucedida, a reinfecção ocorre frequentemente.

O risco de transmissão de FCoV pode ser reduzido através de várias medidas que se encontram descritas no apêndice III. Entre as mais importantes, salientam-se a manutenção de gatos com ≥ 3 anos como a maior proporção da população do gatil, devido a uma maior resistência à excreção crónica ou intermitente de FCoV (Addie *et al.*, 1995); e a criação de um programa de reprodução selectivo, evitando o uso de reprodutores que tenham originado gatos que desenvolveram PIF devido à potencial transmissão da susceptibilidade genética para o desenvolvimento de PIF.

Os métodos de controlo de PIF em gatis, tais como a identificação e remoção de excretores crónicos com métodos de RT-PCR fecal seriados e desmame precoce seguido por isolamento às 5 a 6 semanas de idade (antes da diminuição dos níveis de anticorpos maternos) têm limitações e são difíceis de realizar adequadamente em gatis com um elevado número de animais (Addie *et al.*, 2009). Por exemplo, gatos que não excretam FCoV podem estar infectados com estirpes não virulentas de FCoV, e a excreção pode recomeçar mais tarde (Kipar *et al.*, 2010). O isolamento de gatinhos pode ser útil se a reexposição é prevenida até eles terem mais de 16 semanas de idade, quando o seu sistema imunitário é mais maduro (Pedersen, 2009).

Em gatos saudáveis infectados com FCoV deve evitar-se o uso de fármacos imunossupressores e minimizar a exposição a factores de stress tais como realojamento de gatos seropositivos, realização de cirurgias e estadias em hotéis enquanto os proprietários estão de férias.

Prevenção da infecção em gatinhos

O FCoV normalmente não atravessa a placenta e os gatinhos estão normalmente protegidos pelos anticorpos maternos até às 5-6 semanas de idade. Em gatis de reprodução, devem ser tomadas medidas de prevenção da infecção tais como as descritas no apêndice IV, salientando-se o isolamento das gatas gestantes perto do parto e das gatas e gatinhos após o parto; o desmame precoce às 5 a 6 semanas de idade; e a manutenção da ninhada isolada de outros gatos pelo menos até às 16 semanas de idade. O objectivo do isolamento e desmame precoce não é prevenir a infecção para sempre mas sim retardá-la até os gatinhos serem mais velhos e conseguirem mais facilmente eliminar o vírus depois da exposição (Addie *et al.*, 2009).

Uma das medidas mais importantes é a manutenção de registos de reprodução completos devido à existência de uma componente hereditária na susceptibilidade ao desenvolvimento de PIF. Assim, não está recomendada a utilização de reprodutores que deram origem a gatinhos que desenvolveram PIF (Foley & Pedersen, 1996).

II. OBJECTIVOS

O presente estudo teve como objectivo determinar os aspectos epidemiológicos e clínico-patológicos presentes numa amostra populacional de gatos com Peritonite Infecciosa Felina. Os objectivos específicos foram: analisar o perfil epidemiológico dos gatos diagnosticados com PIF relativamente às variáveis idade, raça, sexo, estado reprodutor e exposição a um evento stressante; avaliar a presença de factores de risco como a sazonalidade, o acesso ao exterior e o contacto com outros gatos infectados; identificar os sinais clínicos e principais alterações hematológicas além da presença de outras doenças como o FIV e FeLV; determinar a proporção de gatos diagnosticados positivamente que receberam tratamento etiológico e o tempo médio de vida após o diagnóstico; e, comparar o tempo médio de sobrevivência nos gatos com PIF efusiva e não-efusiva.

III. MATERIAL E MÉTODOS

1. Caracterização da amostra

Este estudo é um estudo retrospectivo que contemplou uma amostra de 20 gatos diagnosticados com Peritonite Infecciosa Felina (PIF) no Hospital Veterinário Principal (HPV) entre 2006 e 2014. Como apenas foi possível acompanhar pessoalmente 3 casos, os dados dos restantes 17 animais foram recolhidos através de pesquisa das fichas clínicas dos animais que se apresentaram à consulta no HVP e que se encontram armazenados no programa QVET, um sistema de gestão de base de dados para clínicas veterinárias.

2. Critérios de selecção dos casos

Como critérios de inclusão foram considerados elegíveis para este estudo os felídeos apresentados à consulta:

- com história e sinais clínicos compatíveis com Peritonite Infecciosa Felina;
- com efusão abdominal e/ou torácica cuja titulação de anticorpos era igual ou superior a 1:400 e resultado citológico compatível com PIF; com titulação de anticorpos igual ou superior a 1:25 juntamente com análise histopatológica compatível com PIF ou com análise histopatológica compatível com PIF, nos casos de PIF efusiva;
- com análise histopatológica compatível com PIF e titulação de anticorpos positiva (\geq 1:25), nos casos de PIF não-efusiva.

Os critérios de exclusão utilizados neste estudo foram:

- Animais com diagnóstico histopatológico de PIF (*post mortem*) mas com falta de registos de sinais clínicos e sem análise citológica e macroscópica da efusão;
- Animais que não voltaram a consulta no HVP após realizado o diagnóstico de PIF.

3. Metodologia

Com base em todos os dados clínicos recolhidos e após uma cuidada análise estatística, caracterizou-se a amostra em estudo, em relação às variáveis raça, idade, sexo, estado reprodutivo, origem dos animais, acesso à rua, época do ano de aparecimento da doença e exposição a um evento stressante como castração, vacinação e mudança de

ambiente. Foram igualmente registados os principais sinais clínicos, a forma de PIF, as alterações no hemograma e na bioquímica sérica, a presença concomitante de FIV e/ou FeLV, o tratamento instituído e o tempo de sobrevida. Considerou-se forma efusiva quando presentes efusões na cavidade abdominal e/ou torácica e não efusiva quando presentes lesões granulomatosas nos órgãos abdominais, SNC e/ou olhos sem presença de efusões nas cavidades corporais. O tempo de sobrevida foi determinado tendo em conta o intervalo de tempo decorrido entre a data do diagnóstico e a morte espontânea do animal ou até à sua eutanásia devido a ausência de resposta ao tratamento e deterioração da sua condição clínica.

Para o diagnóstico de PIF foram realizados vários exames complementares de diagnóstico, tais como hemograma e bioquímicas sanguíneas (ALT, FA, Bilirrubina total, Proteínas totais, Albumina, BUN e Creatinina), radiografia torácica, ecografia abdominal, análise macroscópica e citológica da efusão, testes serológicos e histopatologia.

O hemograma e bioquímicas sanguíneas foram realizados no HVP, sendo que os valores de referência utilizados para avaliar estas análises foram os utilizados no HVP e encontram-se descritos no apêndice I.

A radiografia torácica foi realizada nos animais que apresentavam dispneia/taquipneia, tendo sido usada para confirmar a presença de efusão pleural.

A ecografia abdominal foi utilizada para descartar outras doenças e avaliar a presença de alterações compatíveis com PIF tais como: presença de líquido ascítico, linfadenomegália e alterações no tamanho e ecogenicidade de órgãos como o fígado e rins.

As citologias das efusões e os testes serológicos foram efectuados no Laboratório DNATech. O método utilizado por este laboratório para a titulação de anticorpos anti-coronavírus é a imunofluorescência indirecta sendo realizadas titulações de 1:25, 1:40, 1:100, 1:200, 1:400, 1:1000 e 1:2000. Segundo as recomendações do laboratório, apenas devem ser considerados no diagnóstico de PIF títulos de anticorpos positivos em diluições \geq a 1:400. Os resultados citológicos foram considerados compatíveis com PIF na presença de exsudados ou transudados modificados; elevado conteúdo proteico ($> 3,5\text{g/dl}$); baixo conteúdo de células nucleadas (< 5000 células nucleadas/ml) e predominância de neutrófilos não-degenerados e macrófagos.

Nos casos em que foram realizadas necrópsias, as histopatologias foram realizadas no Laboratório de Anatomia Patológica da FMV-UTL.

Foi também solicitado a um laboratório nacional os resultados dos testes serológicos de titulação de anticorpos anti-coronavírus felino realizados no ano de 2013 para avaliar a prevalência de animais infectados com FCoV.

4. Análise estatística dos dados

Os dados foram tratados e inseridos em base de dados no Microsoft Office Excel 2007 e o processamento estatístico foi efectuado através do programa IBM-SPSS V20.0.0 (Statistical Package for The Social Sciences), tendo-se fixado o nível de significância em 5%. Todas as variáveis foram analisadas por métodos de estatística descritiva, apresentando-se a frequência e percentagem de casos na amostra estudada.

De forma a comparar as duas formas da doença relativamente a algumas variáveis, os 20 animais foram divididos em dois grupos: um grupo com forma efusiva de PIF constituído por 15 animais e um grupo com a forma não-efusiva de PIF constituído por 5 animais. Assim, utilizaram-se os seguintes testes:

- Teste Mann-Whitney para avaliar a existência de diferenças significativas no tempo de sobrevivência de gatos com PIF efusiva e gatos com PIF não-efusiva;
- Teste de Fisher para avaliar a existência de associação entre a ocorrência de hiperbilirrubinémia em gatos com PIF efusiva e gatos com PIF não-efusiva;
- Teste do Qui-Quadrado para avaliar a existência de relação significativa entre a forma de PIF e a titulação de anticorpos.

Também se utilizou o Teste Mann-Whitney para comparar o tempo médio de vida do grupo de gatos tratados com interferão ómega felino com o grupo de gatos tratados com outros fármacos, tendo sido os animais divididos em 2 grupos para análise destas variáveis: 1 grupo constituído por 5 animais em que foi utilizado o interferão e o outro grupo constituído por 8 animais em que foram utilizadas outras terapêuticas.

IV. APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS

1. Caracterização epidemiológica da amostra estudada

A amostra estudada incluiu 20 felídeos aos quais foi diagnosticado Peritonite Infecciosa Felina. De entre os 20 animais, 14 eram machos e 6 eram fêmeas (Gráfico 1).

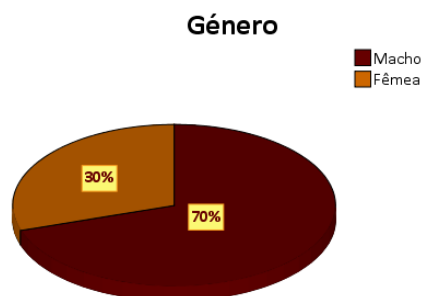


Gráfico 1 - Distribuição dos animais por gênero (Frequência relativa).

No que diz respeito ao estado reprodutivo, 14 animais eram inteiros e 6 eram castrados, dos quais apenas 1 era fêmea (Gráfico 2).



Gráfico 2 - Distribuição da amostra de acordo com o estado reprodutivo (Frequência relativa).

No que concerne à idade dos felídeos na altura do diagnóstico de PIF, verificou-se que dos 20 animais, 9 tinham menos de 1 ano de idade, 7 tinham entre 1 e 2 anos e 4 tinham entre 3 e 4 anos, compreendendo animais entre os 4 meses e os 4 anos de idade (Gráfico 3). A média de idades foi de 17,25 meses, a mediana de 12 meses e a moda de 4 meses.

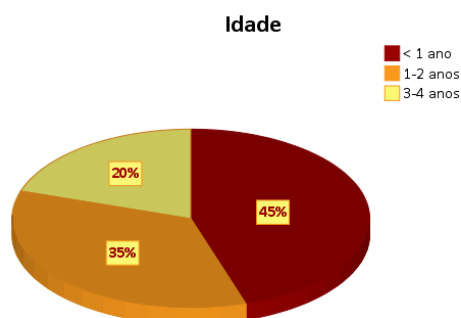


Gráfico 3 - Distribuição etária dos gatos diagnosticados com PIF (Frequência relativa).

Como se pode verificar no Gráfico 4, os animais de raça pura aparecem em maior prevalência (60%, que corresponde a 12/20), em detrimento dos animais sem raça definida que constituem 40% da população total (8/20). A raça mais frequente foi a Europeu Comum (10/20), 1 gato era da raça Bosques da Noruega e outro gato da raça Bengal.

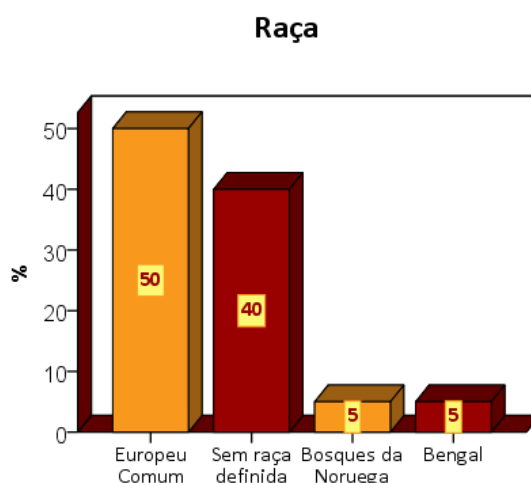


Gráfico 4 - Distribuição da amostra por raça (Frequência relativa).

Relativamente à sua origem, 11 animais tinham sido recolhidos da rua, 3 desconhecia-se a sua origem, 3 tinham sido adoptados de um gatil, 2 animais eram provenientes de um criador (2/20) e apenas 1 tinha sido adquirido em estabelecimento comercial de animais (Gráfico 5).

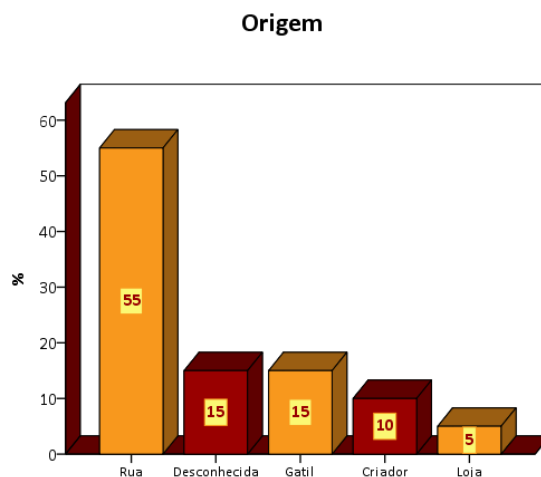


Gráfico 5 - Distribuição da amostra relativamente à sua origem (Frequência relativa).

No que diz respeito ao estilo de vida, 2 gatos eram exclusivamente *outdoor*, 7 tinham frequentemente acesso à rua, 5 raramente tinham acesso à rua e 6 eram exclusivamente *indoor* (Gráfico 6). Dos 20 gatos com PIF, 16 (80%) viviam com outros gatos (variando de 1 a 7 gatos). Duas das 16 famílias afectadas possuíam um gato pertencente à mesma ninhada que também tinha morrido de PIF.

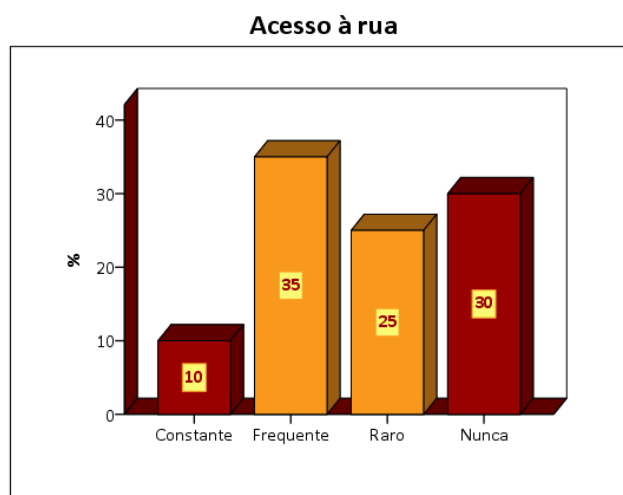


Gráfico 6 - Distribuição da amostra relativamente ao acesso à rua (Frequência relativa).

Relativamente à estação do ano, a época em que ocorreram mais mortes devido a PIF foi no Outono, correspondendo a 40% do número total de felídeos (8/20), tendo os restantes sido diagnosticados no Inverno (7/20) e Verão (5/20). Não se verificou a ocorrência de mortalidade devido a PIF na Primavera (Gráfico 7).

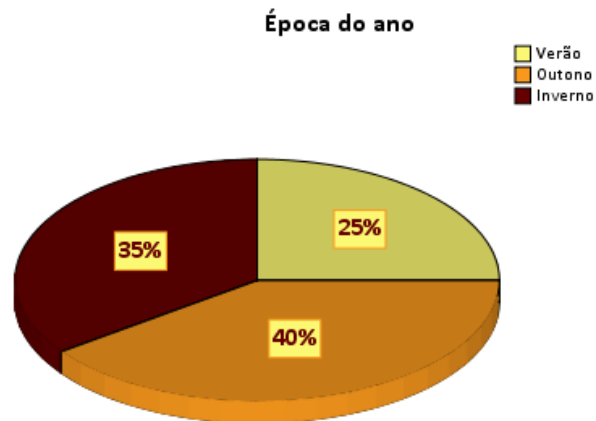


Gráfico 7 - Distribuição da amostra relativamente à época do ano associada a maior mortalidade devido a PIF (Frequência relativa).

Em 11 animais não foi observado nenhum factor desencadeador de stress, 4 felídeos tinham sido vacinados recentemente (Felocell[®]), 3 tinham sofrido mudança de ambiente recente (adopção), 1 gato tinha sido submetido a castração e outro gato tinha realizado exames de diagnóstico (Gráfico 8).

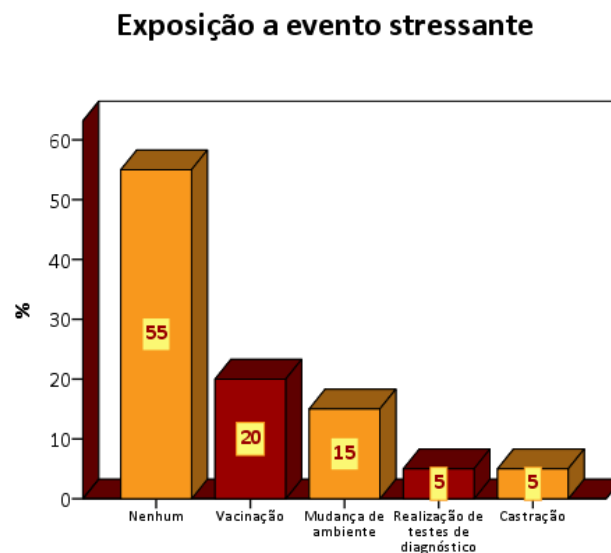


Gráfico 8 - Distribuição da amostra relativamente à exposição a um evento stressante (Frequência relativa).

2. Caracterização clínica da amostra estudada

Como pode ser observado no Gráfico 9, os sinais clínicos obtidos neste estudo variaram consideravelmente entre gatos. Os sinais mais frequentemente observados incluíram perda de peso (16/20), anorexia (16/20), distensão abdominal (15/20), piréxia (15/20) e prostração (14/20). A linfadenomegália ocorreu em 8/20 felídeos, mucosas pálidas em 6/20, dispnéia em 5/20, sinais gastrointestinais em 5/20 e mucosas ictéricas em 4/20.

Apenas 5 gatos apresentaram sinais neurológicos, e destes 2 foram diagnosticados com a forma efusiva de PIF. Os sinais neurológicos observados consistiram em ataxia (4/5), *head tilt* (1/5), *circling* (1/5), convulsões (1/5) e perda do reflexo pupilar e de ameaça (1/5).

Apenas 15% dos gatos (3/20) apresentaram sinais oculares, todos com a forma não efusiva de PIF. Os sinais oculares observados consistiram em descolamento da retina (1/3), alteração da coloração da íris (2/3) e uveíte (1/3).

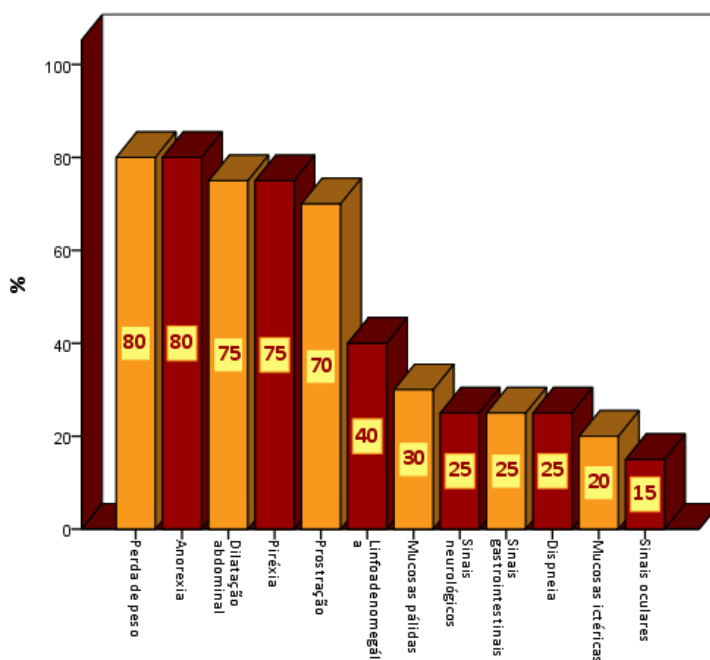


Gráfico 9 - Distribuição dos sinais clínicos na amostra estudada (Frequência relativa).

No que diz respeito à apresentação clínica da doença, 15 animais apresentava a forma efusiva de PIF, sendo que a efusão estava localizada no abdômen em 86,7% (13/15) dos gatos e em ambas as cavidades (torácica e abdominal) em 13,3% (2/15) dos gatos. A forma não-efusiva da doença apenas foi diagnosticada em 5 gatos (Gráfico 10), tendo-se

verificado o envolvimento granulomatoso dos órgãos abdominais em 100 % (5/5) dos gatos, do SNC em 60% (3/5) e ocular em 60% (3/5) dos gatos.

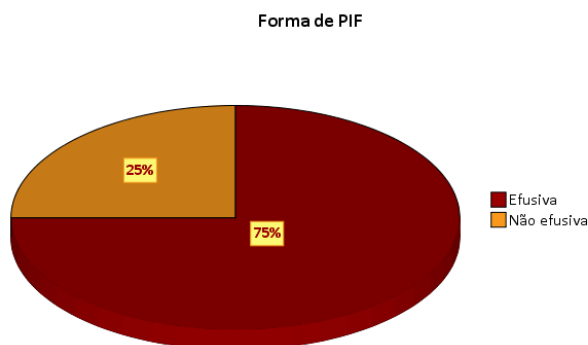


Gráfico 10 - Distribuição da forma de PIF na amostra estudada (Frequência relativa).

3. Caracterização laboratorial da amostra estudada

Como não foi possível realizar o perfil bioquímico e hematológico a todos os animais do presente estudo por limitação financeira dos proprietários, no estudo estatístico referente às alterações no hemograma considerou-se uma amostra de 17 animais e nas alterações bioquímicas uma amostra de 13 animais.

Relativamente ao hemograma, a alteração mais frequentemente encontrada foi a trombocitopénia em 14 gatos. Quanto ao hematócrito os valores variaram entre 9,2 e 29,7%, verificando-se a presença de anemia em 9 felinos em estudo com valores entre 9,2 e 25%, sendo que apenas 11,1% (1/9) dos gatos tinha anemia regenerativa. Quanto ao leucograma, verificou-se a ocorrência de leucocitose em 8 animais e leucopénia em apenas 1 gato. Foi observada linfopénia em 11/17 animais, monocitose em 4/17 e linfocitose em 2/17 (Gráfico 11).

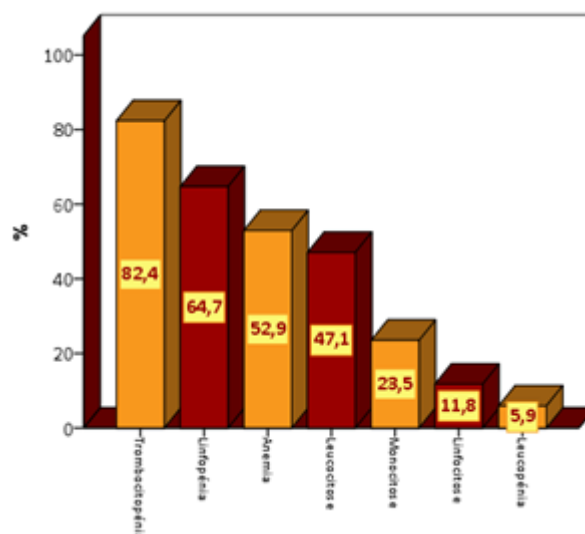


Gráfico 11 - Distribuição das alterações do hemograma (Frequência relativa).

No que diz respeito ao perfil bioquímico, constatou-se que as alterações mais consistentes nesta doença foram um ratio A:G inferior a 0,4 em 9/13 animais, hipoalbuminemia em 8/13 animais e hiperproteinemia em 8/13 (Gráfico 12). Também se observou hiperbilirrubinemia em 6/13 dos animais, dos quais 4 estavam infectados com a forma efusiva de PIF. Na primeira apresentação, os valores de hiperbilirrubinemia variaram entre 1,2 a 2,1 mg/dl sendo que se verificou um aumento destes valores de bilirrubina nas últimas análises realizadas 1 a 3 dias antes da morte de todos estes animais. Também se verificou uma diminuição do BUN em 6/13 dos gatos, um ratio A:G entre 0,4 e 0,8 em 4/13, aumento das enzimas hepáticas em 2/13 e hipoproteinemia em 2/13.

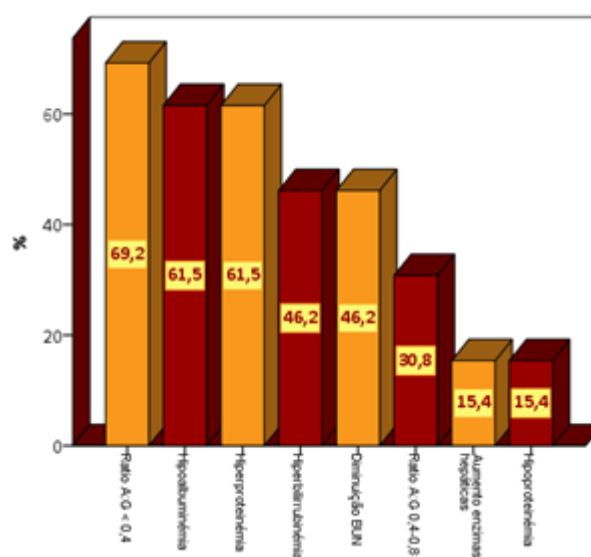


Gráfico 12 - Distribuição das alterações no perfil bioquímico da amostra (Frequência relativa).

Para avaliar a existência de associação entre a ocorrência de hiperbilirrubinemia em gatos com PIF efusiva e não-efusiva, aplicou-se o Teste de Fisher, não se tendo observado diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p=1,000$). No entanto, pela análise da tabela de cruzamento das duas variáveis (tabela 1), verificou-se uma maior percentagem de gatos com PIF efusiva sem hiperbilirrubinemia e iguais percentagens no grupo com a forma não-efusiva.

Tabela 1 - Distribuição dos dois grupos de animais relativamente à ocorrência de hiperbilirrubinemia.

			Forma de PIF		Total
			Efusiva	Não efusiva	
Hiperbilirrubinemia	Não	Nº	5	2	7
		% (Forma de PIF)	55,6%	50,0%	53,8%
	Sim	Nº	4	2	6
		% (Forma de PIF)	44,4%	50,0%	46,2%
Total		Nº	9	4	13
		% (Forma de PIF)	100,0%	100,0%	100,0%

A análise macroscópica e citológica do líquido de derrame foi realizada em todos os animais com a forma efusiva de PIF, tendo sido avaliados os seguintes parâmetros: cor, densidade, proteínas totais, ratio A:G e realizado o estudo microscópico da amostra. A cor da efusão das amostras testadas variou entre o amarelo pálido e o amarelo escuro, a densidade variou entre 1.020 e 1.035, as proteínas totais entre 4,5 g/dL e 6,2 g/dL e o ratio A:G compreendeu valores entre 0,2 e 0,4 (tabela 2). Relativamente ao exame microscópico das amostras, observaram-se maioritariamente neutrófilos não-degenerados, macrófagos e linfócitos em todas as amostras. O teste de Rivalta não foi realizado em nenhuma amostra.

Tabela 2 - Resultados da avaliação da efusão nos 15 animais com PIF efusiva.

Animal	Cor	Densidade	PT (g/dL)	Ratio A:G	Titulação anticorpos	Classificação
1	Amarelo	1.025	4,7	0,29	1:400	Transudado modificado
2	Amarelo	1.028	4,6	0,34	1:400	Transudado modificado
3	Amarelo turvo	1.035	6,1	0,22	1:400	Exsudado não séptico
4	Amarelo	1.032	6,2	0,23	1:400	Exsudado não séptico
5	Amarelo	1.023	4,8	0,38	1:400	Transudado modificado
6	Amarelo	1.035	5,3	0,36	1:1000	Transudado modificado
7	Amarelo pálido	1.020	4,5	0,3	1:400	Exsudado não séptico
8	Amarelo	1.021	4,8	0,36	1:1000	Transudado modificado
9	Amarelo	1.030	5,6	0,27	1:400	Transudado modificado
10	Amarelo	1.031	6,1	0,2	—	Exsudado não séptico
11	Amarelo	1.033	5,4	0,33	1:25	Exsudado não séptico
12	Amarelo	1.029	5,2	0,31	1:400	Transudado modificado
13	Amarelo	1.032	6,2	0,24	—	Exsudado não séptico
14	Amarelo	1.026	4,7	0,4	1:400	Transudado modificado
15	Amarelo	1.032	5,9	0,27	1:400	Exsudado não séptico

A titulação de anticorpos anti-coronavírus foi realizada em 18 gatos, dos quais 13 apresentavam a forma efusiva de PIF e 5 a forma não-efusiva. As amostras enviadas para a realização do teste serológico consistiram no líquido da efusão, nos casos de PIF efusiva, e sangue, nos casos de PIF não-efusiva. Nos casos em que não foi realizada histopatologia, apenas foram considerados animais com títulos de anticorpos iguais ou superiores a 1:400. Tal como pode ser observado na tabela 3, apenas 1 gato apresentou titulação positiva até 1:25, correspondendo a um caso de PIF efusiva confirmada por histopatologia. Titulações positivas até 1:200 apenas foram observadas em 2 animais com a forma não-efusiva de PIF. 72,2% (13/18) dos animais apresentaram uma titulação positiva até 1:400 e apenas 2 animais

apresentaram titulação positiva até 1:1000, correspondendo a 2 casos com forma efusiva da doença.

Tabela 3 - Distribuição da população em relação ao título de anticorpos encontrado em cada animal, pelo método de IFI.

			Titulação de anticorpos				Total
			1/25	1/200	1/400	1/1000	
Forma de PIF	Efusiva	Nº	1	0	10	2	13
		% (Forma de PIF)	7,7%	,0%	76,9%	15,4%	100,0%
	Não efusiva	Nº	0	2	3	0	5
		% (Forma de PIF)	,0%	40,0%	60,0%	,0%	100,0%
Total		Nº	1	2	13	2	18
		% (Forma de PIF)	5,6%	11,1%	72,2%	11,1%	100,0%

Através da realização de um Teste de Qui-Quadrado, verificou-se que não existe uma associação significativa entre a forma de PIF e a titulação de anticorpos ($p=0,090$).

No apêndice II, encontram-se os dados estatísticos relativos à titulação de anticorpos anti-coronavírus felino no Laboratório DNATech referentes ao ano 2013.

Dos 20 animais, apenas se obteve o diagnóstico definitivo por histopatologia em 10 casos, dos quais 5 correspondiam à forma efusiva de PIF e 5 à forma não-efusiva.

Não se observou nenhum animal FIV e/ou FeLV positivo dos 12 animais testados.

4. Tratamento e tempo médio de vida após o diagnóstico

Dos 20 felídeos com PIF, 7 (35%) foram eutanasiados, por decisão dos proprietários, antes de qualquer tentativa terapêutica. Dos 13 gatos submetidos a tratamento, 7 acabaram por ser eutanasiados devido a ausência de resposta ao tratamento e 6 morreram devido à progressão da doença.

Dos 13 animais tratados, 11 receberam prednisolona e suplementos vitamínicos e 10 antibioterapia (Gráfico 13). Recorreu-se ao uso do interferão ômega recombinante felino em 5 gatos. O laurato de nandrolona foi usado em 2 animais, bem como a pentoxifilina (2/13). As medidas terapêuticas menos frequentes foram o *Propionibacterium acnes* (Infermun®) e a

transusão sanguínea, que foram apenas instituídos em 1 gato. O tratamento de suporte consistiu na realização de fluidoterapia a todos os animais e uma transfusão sanguínea no gato que apresentava uma anemia regenerativa severa. Também foram administrados antibióticos a 76,9% dos felídeos para controlo de infecções bacterianas secundárias. Os antibióticos utilizados foram enrofloxacina (n= 6), metronidazol (n=2), amoxicilina e ácido clavulânico (n=3), cefovecina sódica (n=1), ampicilina (n=1) e cefazolina (n=1), sendo a enrofloxacina, um antibiótico de largo espectro de acção, o princípio activo mais utilizado.

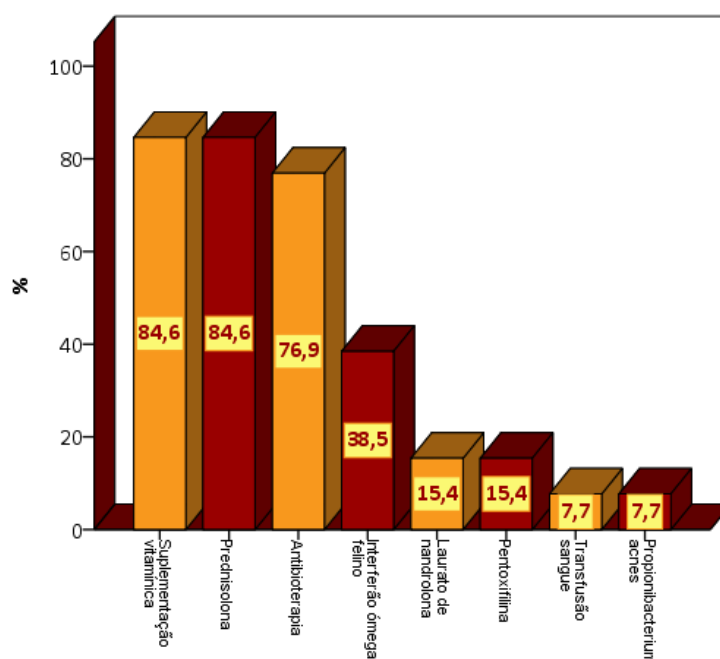


Gráfico 13 - Distribuição da população relativa à terapêutica instituída nos animais com PIF.

O tempo médio de vida do grupo de gatos tratados com interferão ômega felino foi comparado com o de gatos tratados com outros fármacos, através do Teste de Shapiro-Wilk para avaliar quanto à normalidade dos dados (tabela 4).

Tabela 4 - Resultados do Teste de Shapiro-Wilk realizado para avaliação dos dados quanto à normalidade (Tempo médio de vida *versus* Tratamento utilizado).

		<i>P</i>	Distribuição
Tempo de sobrevivência (dias)	Com interferão ômega	0,045	Não Normal
	Sem interferão ômega	0,022	Não Normal

Atendendo a que a distribuição não é Normal nos dois grupos, foi aplicado o Teste Mann-Whitney (tabela 5). Os resultados desta análise demonstraram que os gatos tratados com interferão ómega felino tiveram um tempo de sobrevida significativamente superior ao grupo de gatos submetidos a outras medidas terapêuticas ($U=3,000$; $p=0,013$).

Tabela 5 - Resultados do Teste Mann-Whitney realizado para comparar o tempo médio de vida do grupo de gatos tratados com interferão ómega felino com o de gatos tratados com outros fármacos.

		<i>N Total</i>	Posição média	Tempo médio de sobrevida (dias)	<i>p</i>
Tempo de sobrevida (dias)	Com interferão ómega	5	10,40	86,6	0,013
	Sem interferão ómega	8	4,88	16,9	

O tempo de sobrevida dos felinos submetidos a tratamento variou de um mínimo de 7 dias a um máximo de 240 dias. A média destes resultados foi de 43,7 dias (tabela 6). Como pode ser observado no gráfico 14, em 84,6% dos felídeos o tempo de vida foi inferior a 50 dias, em 7,7% variou entre 50 e 100 dias e em 9,1% foi superior a 100 dias.

Tabela 6 - Tempo de sobrevida (dias) dos gatos submetidos a tratamento.

N		Média	Mediana	Moda	Desvio padrão	Mínimo	Máximo
Valid	Missing						
13	7	43,69	28,00	7	63,218	7	240

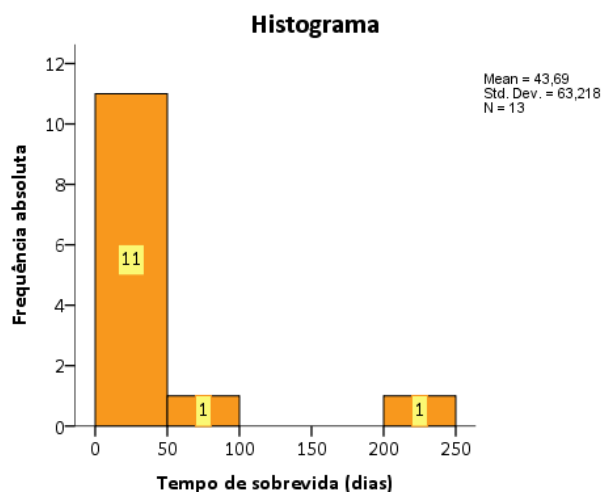


Gráfico 14 - Tempo de sobrevida dos gatos submetidos a tratamento (dias).

Para avaliar a existência de diferenças significativas no tempo de sobrevida de gatos com PIF efusiva e PIF não-efusiva, foi aplicado o Teste de Shapiro-Wilk para avaliar quanto à normalidade dos dados (tabela 7).

Tabela 7 - Resultados do Teste de Shapiro-Wilk realizado para avaliação dos dados quanto à normalidade (Tempo de vida após o diagnóstico).

		<i>P</i>	Distribuição
Tempo de sobrevida (dias)	PIF efusiva	< 0,001	Não Normal
	PIF não efusiva	0,461	Aproximadamente Normal

Atendendo a que a distribuição não é Normal nos dois grupos considerados, aplicou-se o Teste Mann-Whitney (tabela 8). Este não revelou diferenças estatisticamente significativas no tempo de sobrevida entre gatos com PIF efusiva e PIF não efusiva ($U=18,000$; $p=1,000$). Além disso, a posição média de cada grupo não revela qualquer tendência para diferenças.

Tabela 8 - Resultados do Teste Mann-Whitney realizado para comparar o tempo de sobrevida de gatos com PIF efusiva e gatos com PIF não-efusiva

		<i>N Total</i>	Posição média	Tempo médio de sobrevida (dias)	<i>p</i>
Tempo de sobrevida (dias)	PIF efusiva	9	7,00	52,8	1,000
	PIF não efusiva	4	7,00	23.3	

V. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Neste estudo, foi observado um maior número de casos de PIF em gatos machos (70%), o que sugere uma maior predisposição para o desenvolvimento de PIF em machos, o que corrobora o citado por outros autores (Rohrbach *et al.*, 2001; Worthing *et al.*, 2012). Contudo, não se pode excluir a possibilidade de os machos estarem representados em maior número na população felina do HVP.

Em relação ao estado reprodutivo, Worthing *et al.* (2012) descreveram um maior risco desta doença em gatos inteiros, tal como observado em 70% da população felina deste estudo. Esta sobrerepresentação de gatos inteiros provavelmente está relacionada com o facto de a maior parte dos gatos apenas ser esterilizada após os 6 meses de idade e consequentemente gatos jovens terem maior probabilidade de serem inteiros, sendo que neste estudo os gatos inteiros eram significativamente mais novos (idade média de 12,1 meses) do que os gatos castrados (idade média de 29,2 meses), o que suporta esta relação entre a idade e o estado reprodutivo.

O presente estudo demonstrou que a PIF é uma doença que ocorre tipicamente em felídeos jovens (média de idades foi de 17,25 meses). No momento de diagnóstico de PIF, 45% dos felídeos tinha menos de um ano de idade. Tal situação pode ser explicada, em parte, pela exposição a vários factores de stress (desmame, castração, vacinação e realojamento) e imaturidade dos sistema imunitário de gatinhos jovens (até às 16 semanas de idade), podendo existir uma relação temporal entre a infecção com FCoV e subsequente desenvolvimento de

PIF, que normalmente ocorre nos primeiros 18 meses de vida. Estes resultados corroboram os descritos por Kipar & Meli (2014) que reportaram uma maior prevalência em gatos jovens entre os 6 meses e os 2 anos de idade. No entanto, Rohrbach *et al.* (2001) referem que a PIF pode ocorrer em qualquer idade, existindo um segundo pico de incidência da doença em gatos geriátricos (> 10 anos de idade), possivelmente devido a uma função imunitária subótima. A distribuição bimodal da idade referida por estes autores não se verificou no presente estudo, sendo que o gato mais velho diagnosticado com PIF tinha 4 anos, o que provavelmente se deve à menor magnitude deste segundo pico e à ocorrência de outras doenças em gatos idosos com sinais clínicos idênticos aos da PIF que poderão estar presentes concomitantemente (ex: neoplasias), diminuindo o índice de suspeição de PIF e conduzindo ao subdiagnóstico desta doença. Relativamente à raça, verificou-se que os animais de raça pura foram os mais afectados, com uma prevalência de 60%, o que está de acordo com o descrito por vários autores (Kass & Dent, 1995; Pedersen, 2009; Worthing *et al.*, 2012). A raça Europeu Comum foi a mais representada o que, provavelmente, estará mais relacionado com uma sobre-representação do Europeu Comum na população felina em Portugal, do que uma predisposição racial real. Estudos anteriores referem uma predisposição racial do Abissínio, Bengal, Birmanês, Burmês, Britânico de pêlo curto, Himalaio, Ragdoll e do Devon Rex (Somogyi *et al.*, 2006; Worthing *et al.*, 2012).

Relativamente à origem, a maior parte destes gatos provinha de ambientes com vários gatos, sendo que a maioria tinham sido recolhidos de ninhadas de rua, tendo sido provavelmente infectados com FCoV logo após a perda da imunidade materna.

No que diz respeito ao estilo de vida, 70% dos animais com PIF tinham acesso ao exterior. Tendo em conta estes resultados, o acesso ao exterior pode constituir um factor de risco para o desenvolvimento da doença dado que estes animais além de terem maior probabilidade de sofrerem uma exposição ao FCoV, também podem ser sujeitos a um maior número de factores de stress (ex: lutas).

Ambientes com múltiplos gatos parecem ser de maior risco para o desenvolvimento desta doença, dado que a maior parte dos gatos deste estudo (80%) viviam com outros felinos. Com efeito está descrito que a prevalência da infecção em casas com vários co-habitantes é alta, apesar de apenas aproximadamente 10% desses gatos desenvolvem PIF (Addie & Jarrett, 1992). 10% dos pacientes tinham contactado com gatinhos da mesma ninhada que tinham morrido de PIF, levantando a hipótese da existência de uma predisposição hereditária.

Relativamente à estação do ano, a época em que ocorreram mais mortes devido a PIF foi no Outono e Inverno (75%), resultados que estão de acordo com o descrito por Foley *et al.* (1997) que encontraram uma associação entre a estação do ano e a ocorrência da doença, com mortalidade mais provável durante o Outono e Inverno possivelmente devido à influência do *stress* associado às baixas temperaturas.

Segundo Addie *et al.* (2009), o *stress* também constitui um factor predisponente, sendo importante evitar situações como cirurgias, idas para gatis/hóteis, mudanças de meio ambiente ou traumas no manuseio de um gato FCoV positivo. Neste estudo, cerca de metade da população teria sofrido factores de *stress* e a outra metade não, pelo que não poderemos concluir que o *stress* predispõe estes animais a desenvolverem PIF.

No presente estudo, 75% gatos manifestaram a forma húmida e apenas 25% a forma seca de PIF. Esta distribuição é concordante com a descrita na literatura: a forma húmida é a mais comum, embora a proporção de gatos com a forma seca de PIF tenha vindo a aumentar nas últimas décadas (Hartmann, 2003; Pedersen, 2009). Neste estudo não se verificou a ocorrência da forma mista de PIF, descrita por vários autores (Pedersen, 2009; Drechsler *et al.*, 2011), o que pode ser explicado pelo reduzido tamanho da amostra, dado que se trata de uma forma rara, descrita em apenas 11,8% dos gatos com PIF (Tsai *et al.*, 2010).

A PIF é uma doença com sintomatologia pouco específica (Addie *et al.*, 2009) e, de facto, os sinais clínicos observados foram muito diversos incluindo uma combinação de perda de peso, anorexia, dilatação abdominal, pirécia, prostração, linfadenomegália, mucosas pálidas e/ou ictéricas, dispneia, diarreia, sinais neurológicos e sinais oculares. A perda de peso e a anorexia foram os sinais clínicos mais frequentes, seguidos da febre não responsiva a tratamento. Estes sinais foram comuns a ambas as formas da doença, não permitindo distingui-las.

Segundo Wolfe & Griesemer (1996) e Wright *et al.* (1999), a distensão abdominal é o sinal mais evidente na forma efusiva de PIF, tendo sido detectada no presente estudo em todos os gatos com PIF húmida. A dispneia inspiratória foi reportada em 5 doentes, dos quais 4 apresentavam efusão abdominal, concluindo-se que a causa desta alteração respiratória estava associada à compressão diafragmática provocada pela ascite.

A linfadenomegália apenas ocorreu em 40% dos animais, afectando os gânglios linfáticos mesentéricos em 87,5% dos casos, enquanto que Lewis & O'Brien (2010) reportaram linfadenomegália em 56% dos gatos. Esta diferença de resultados poder-se-á

dever ao facto de a ecografia abdominal não ter sido realizada em todos os gatos, podendo ter sido uma alteração subdiagnosticada.

Cerca de 20% dos animais exibiram mucosas ictéricas, todos com a forma efusiva de PIF, apesar de poder ocorrer em ambas as formas da doença, tal como reportado por Hartmann (2005) e Addie *et al.* (2009). A palidez das mucosas foi observada em 30% dos animais embora seja um sinal bem mais comum que o verificado (68% segundo Norris *et al.*, 2005). Contudo, registou-se anemia em 52,9% dos gatos, o que indica que não se detectou a palidez das mucosas em alguns gatos com anemia.

A maioria dos gatos com sinais oculares e neurológicos apresentaram a forma não efusiva de PIF, tal como descrito anteriormente (Pederson, 2009). Os sinais neurológicos ocorreram em 25% dos animais, percentagem superior à reportada por Kline *et al.* (1994), que referiram a presença de sinais neurológicos em 10% dos animais com PIF. Apenas 1 dos 5 animais com sintomatologia neurológica apresentou convulsões, resultado semelhante ao observado por Timmann *et al.* (2008), que verificou que 25% dos gatos com alterações neurológicas apresentaram convulsões. Cannon *et al.* (2005) reportaram a ocorrência de sinais dermatológicos em gatos com PIF, tais como lesões nodulares múltiplas e fragilidade da pele, o que não foi observado em nenhum animal neste estudo.

Relativamente aos exames complementares, o achado mais comum no hemograma foi a trombocitopenia. A trombocitopenia pode reflectir a presença de coagulação intravascular disseminada (CID) ou destruição plaquetária imunomediada (Sykes, 2014) mas como não foram realizados testes laboratoriais para avaliação da coagulação (tempo de tromboplastina parcial activada, tempo de coagulação activada, tempo de protrombina e concentração de produtos da degradação do fibrinogénio) não se concluiu se estes processos foram responsáveis pela trombocitopenia nos gatos estudados. Contudo, não se pode descartar a possibilidade de esta proporção tão elevada ser devida à colheita difícil da amostra e a erros laboratoriais, dado que não foram realizados esfregaços sanguíneos para descartar a presença de agregação plaquetária.

Verificou-se a presença de anemia em 52,9% dos felinos, proporção inferior ao relatado por Tsai *et al.* (2011) que registou esta alteração em 2/3 dos doentes. Aproximadamente em 90% dos casos, a anemia era do tipo normocítica normocrómica e portanto, potencialmente não regenerativa, tal como descrito na literatura (Sparkes *et al.*, 1991; Paltrinieri *et al.*, 1998). Em apenas um dos casos (11,1%) se verificou a presença de anemia regenerativa, correspondendo ao animal que apresentou uma anemia hemolítica

imunomediada, resultado semelhante ao obtido por Norris *et al.* (2005), que reportou a ocorrência de anemia hemolítica imunomediada em 8% dos gatos com anemia.

As principais alterações encontradas no leucograma foram linfopénia em 64,7% dos animais e leucocitose com neutrofilia em 47,1%.

A linfopénia é uma das alterações mais frequentes na PIF, podendo ocorrer em até 75% dos animais (Sparkes *et al.*, 1994), sendo que Tsai *et al.* (2011) descreveu esta alteração em 64,1% dos animais, resultado semelhante ao obtido no presente estudo. Por sua vez, a proporção de casos com leucocitose foi superior à detectada por Tsai *et al.* (2011), 37,8%. Segundo Sykes (2014), a contagem leucocitária pode estar aumentada ou diminuída, ocorrendo com maior frequência leucocitose. A presença de leucopénia apenas se verificou em 5,9% dos gatos, resultado semelhante ao obtido por Tsai *et al.* (2011) que verificou esta alteração em 4,4% dos animais.

Embora frequentemente se afirme que linfopénia e neutrofilia são típicas de PIF, estas alterações podem ser interpretadas como um "leucograma de stress" típico, que pode ocorrer em muitas outras doenças sistémicas tais como hipertiroidismo, hiperadrenocorticism, diabetes mellitus, entre outras (Paltrinieri *et al.*, 2001; Addie & Jarret, 2006). Curiosamente, a neutrofilia e a linfopénia foram resultados que ocorreram simultaneamente em apenas 23% dos gatos o que significa que estas alterações não terão estado associadas a um leucograma de stress.

As alterações bioquímicas que ocorreram com maior prevalência foram hiperproteinémia e hipoalbuminémia, sendo concomitantes em 37,5% dos felídeos. Segundo Sharif *et al.* (2010), o aumento das proteínas totais séricas ocorre em aproximadamente 50% dos gatos com a forma exsudativa e em 70% com a forma seca, resultados semelhantes aos obtidos no presente estudo, 55,6% e 75%, respectivamente. A ocorrência de hipoalbuminémia foi mais evidente na forma efusiva de PIF (77,8%) do que na forma seca (25%), provavelmente devido à perda de albumina nas efusões, o que é corroborado por Paltrinieri *et al.* (1998).

Relativamente aos parâmetros anteriores, o ratio A:G tem um valor de diagnóstico mais consistente nesta doença (Addie & Jarret, 2006), tendo-se verificado a sua diminuição (ratio A:G < 0,8) em todos os animais. Cerca de 70% dos doentes apresentaram um ratio inferior a 0,4, valor que é um forte indicador de PIF (Addie & Jarret, 2006).

Comparativamente aos valores detectados na primeira apresentação, verificou-se um aumento da bilirrubina nas últimas análises realizadas antes da morte em todos estes animais,

sugerindo que a hiperbilirrubinemia possa ter valor como parâmetro de estadiamento da doença e ser um indicador de mau prognóstico (Tsai *et al.*, 2011). No presente estudo não se verificou a existência de uma associação significativa entre a ocorrência de hiperbilirrubinemia em gatos com PIF efusiva e PIF não-efusiva, ao contrário do estudo de Tsai *et al.* (2011) em que foi observada uma maior prevalência de hiperbilirrubinemia no grupo efusivo.

Relativamente à análise da efusão, os resultados encontrados foram compatíveis com as características da efusão de PIF descritas na literatura: líquido de cor amarelo palha a dourado, elevada densidade (1.017 a 1.047) e elevado conteúdo proteico (tipicamente > 3,5 g/dL) (Paltrinieri *et al.*, 1999). A quantificação proteica das efusões permite determinar o rácio A:G, que é o teste de diagnóstico *ante mortem* de PIF mais valioso. Este rácio compreendeu valores entre 0,2 e 0,4, o que é fortemente indicativo de PIF (Addie, 2010). Relativamente ao exame microscópico das amostras, os achados citológicos foram consistentes com o diagnóstico clínico de PIF, tendo-se observado maioritariamente neutrófilos não-degenerados e pequenas quantidades de macrófagos, células mesoteliais e linfócitos.

No presente estudo, apenas 1 gato apresentou titulação positiva até 1:25, sendo um caso muito duvidoso, mas cujo diagnóstico de PIF efusiva foi confirmado por histopatologia. Segundo Hartmann (2005), alguns gatos com a forma efusiva podem apresentar títulos baixos de anticorpos ou mesmo não apresentarem anticorpos contra FCoV devido à existência de grandes quantidades do vírus presente no animal que se ligam a anticorpos, formando complexos e tornando os anticorpos indisponíveis para o antígeno do teste. Ao contrário do descrito por Addie & Jarret (2006) que referem que animais com a forma não-efusiva de PIF possuem títulos de anticorpos superiores aos que apresentam a forma húmida, as titulações mais elevadas (positivas até 1:1000) ocorreram em 2 felídeos com a forma efusiva da doença. Uma explicação para a elevada titulação de anticorpos encontrada nestes dois gatos com PIF efusiva é uma possível infecção com ambos os serótipos de FCoV (tipo I e II) pois segundo Kummrow *et al.* (2005), animais co-infectados apresentam títulos de anticorpos superiores comparativamente a animais infectados com apenas um serótipo.

A título de curiosidade, foi solicitado a um laboratório nacional (DNATech) os resultados dos testes serológicos de titulação de anticorpos anti-coronavírus felino realizados no ano de 2013 (Apêndice II). Nesse período de tempo, foram analisadas amostras de 904 felídeos para deteção de anticorpos anti-coronavírus felino através do método de

imunofluorescência indirecta. É importante referir que o limiar de positividade é variável entre laboratórios, sendo neste caso considerado um resultado positivo para infecção com FCoV a partir da titulação 1:25. Assim, foram considerados seropositivos 785 dos 904 felídeos testados (86,8%). Como sabemos, estes testes serológicos não diferenciam gatos infectados com FECV e FIPV permitindo-nos apenas concluir a existência de uma elevada prevalência de animais infectados com FCoV na população felina. Segundo Addie & Jarret (1992), uma elevada percentagem de gatos saudáveis têm anticorpos contra FCoV, sendo que apenas 10% desses gatos desenvolvem PIF. Segundo as recomendações do laboratório, apenas devem ser considerados no diagnóstico de PIF títulos de anticorpos iguais ou superiores a 1:400, o que se verificou em cerca de 47% dos animais testados. Os testes serológicos constituem um exame complementar muito utilizado pelos médicos veterinários no diagnóstico de PIF, contudo é necessária muita cautela na sua interpretação dado que títulos altos de anticorpos no organismo podem reforçar a suspeita de PIF mas não são confirmatórios, e títulos baixos ou negativos não excluem a doença devido à possibilidade de não reconhecimento de anticorpos por formação de imunocomplexos ou em casos de doença terminal (Addie *et al.*, 2009). Desta forma, os resultados do teste serológico têm de ser ponderados em conjunto com os sinais clínicos do animal. Infelizmente, por questões de sigilo profissional, o laboratório DNATech não pôde fornecer mais informações relativas a cada animal tais como idade, sexo, raça e sinais clínicos, sendo desta forma impossível tirar conclusões relativamente à prevalência de PIF nos animais testados para anticorpos anti-coronavírus felino.

O diagnóstico definitivo de PIF só é possível através da histopatologia e imunohistoquímica de lesões características, mas não foi realizado rotineiramente na prática clínica devido ao elevado risco anestésico associado a estes pacientes. No entanto, salienta-se todos os casos diagnosticados *ante mortem*, e que foram posteriormente sujeitos a necropsia (50% dos animais), demonstraram análise histológica compatível com PIF. Os achados mais frequentes foram piogranulomas multifocais em órgãos como o fígado, intestino, baço e rins e linfadenite mesentérica. Em alguns casos de PIF não-efusiva também se identificou, entre outras alterações, infiltração das meninges e da coróide (na zona adjacente à emergência do nervo óptico) por células inflamatórias.

Neste estudo, todos os animais testados para FIV/FelV foram negativos. Estas doenças virais debilitam o sistema imunitário e como tal podem ser um factor de risco para o desenvolvimento de PIF. Efectivamente, quando os testes de diagnóstico de FIV e FelV

surgiram, um terço dos gatos com PIF tinha infecção concomitante com FeLV (Pedersen, 2009). Contudo, com a diminuição da incidência de FeLV na população de gatos, a proporção de gatos com PIF e outras infecções concomitantes com FeLV diminuiu muito, sendo detectada actualmente em menos de 10% dos gatos domésticos com PIF (Pedersen, 2009).

No que concerne à terapêutica instituída, constatou-se que 35% dos felídeos não foram submetidos a tratamento dado terem sido eutanasiados aquando do diagnóstico por decisão dos proprietários. Infelizmente, por se tratar de uma doença fatal e para a qual ainda não existe um tratamento eficaz, muitos proprietários optam por eutanasiar o seu animal logo após o diagnóstico. No grupo de animais submetidos a tratamento, a prednisolona foi o fármaco mais utilizado (85% dos doentes) e a dose administrada seguiu as recomendações descritas na literatura (Ritz *et al.*, 2007). Estes animais demonstraram uma melhoria inicial dos sinais clínicos (aumento do apetite), contudo de curta duração.

O interferão ómega recombinante felino apenas foi utilizado em 38,5% dos animais, aos quais também foi administrada concomitantemente prednisolona. Embora o seu uso, juntamente com glucocorticóides seja o tratamento mais adequado, apenas foi possível realizar este tratamento num reduzido número de animais devido ao elevado custo das apresentações comerciais do Interferão Ómega Felino. O Infermun[®], que é também um imunomodulador foi utilizado em 1 dos 13 gatos (7,7%), optando-se pelo seu uso neste caso devido ao menor custo relativamente ao Interferão.

A pentoxifilina foi utilizada em associação com prednisolona em 15,4% dos animais numa dose de 100 mg/gato PO BID, tal como recomendado por Norris (2007). Contudo, segundo Pedersen (2009), não parece ser uma opção terapêutica eficaz em gatos com PIF. Nos 2 gatos em que foi utilizada, o tempo de sobrevida foi de 28 e 240 dias. O gato com o tempo de sobrevida mais prolongado do estudo (240 dias) também foi tratado com interferão recombinante felino, sendo que após 6 meses de tratamento com evidente melhoria dos sinais clínicos, foi interrompida a administração de pentoxifilina. Contudo, após 1 mês foi retomada a sua administração devido ao desenvolvimento de anorexia e letargia, mas o quadro clínico deste animal continuou a deteriorar-se acabando por morrer.

O efeito da suplementação vitamínica nos casos de PIF é ainda controverso, dado que não existem ensaios clínicos a comprovar a sua utilidade. Contudo, empiricamente, e dado que os pacientes com PIF geralmente se apresentam anoréxicos, esta suplementação é frequentemente incluída nas medidas terapêuticas de suporte, tal como verificado em 84,6% dos gatos deste estudo.

O laurato de nandrolona (Laurabolin®) foi usado em apenas 2 animais na dose de 2-5 mg/kg cada 21 dias, por via IM. Trata-se de um esteróide anabólico usado para aumentar o apetite e diminuir o catabolismo para manutenção da condição corporal especialmente se houver evidência de falha renal (Addie & Jarrett, 2006). Contudo, não se observaram efeitos benéficos nos dois animais em que foi utilizado, sendo que estes continuaram a apresentar anorexia e perda da condição corporal.

Dos 13 gatos submetidos a tratamento, 7 acabaram por ser eutanasiados devido a ausência de resposta à medicação e/ou deterioração da sua condição clínica e qualidade de vida.

Em termos globais, a média da sobrevida dos gatos tratados foi de 43 dias (7-240 dias). O grupo de animais tratados também com interferão ómega felino demonstraram um aumento significativo do tempo de vida em 86,6 dias comparativamente aos outros animais (16,9 dias).

A análise estatística com recurso ao Teste Mann-Whitney não revelou a existência de diferenças significativas no tempo de sobrevida dos gatos tendo em conta as duas formas da doença. O tempo médio de sobrevida no grupo de gatos com PIF efusiva foi de 52 dias (7-240 dias) e de 23 dias (10-40 dias) no grupo de PIF não-efusiva. Estes resultados contrariam os descritos por Tsai *et al.* (2011) que reportaram um tempo médio de sobrevida de 21 dias na forma efusiva da doença e 38 dias na forma não-efusiva. Uma possível explicação para esta diferença de resultados poderá ser o tratamento utilizado, sendo que Tsai *et al.* (2011) utilizaram prednisolona, interferão α humano e nelfinavir nos 12 gatos com a forma seca de PIF, sendo que um desses animais sobreviveu 477 dias. Dado que a amostra era pequena, este caso isolado com um elevado tempo de sobrevida também poderá ter influenciado os resultados obtidos nesse estudo.

Para finalizar, é importante salientar que este foi um estudo retrospectivo e como tal apresenta algumas limitações que, devido ao seu possível impacto sobre os resultados e conclusões obtidos, devem ser referidas.

Em primeiro lugar, foi efectuado numa população de 20 felídeos, amostra relativamente reduzida, e da qual não se podem retirar conclusões absolutas acerca das características epidemiológicas e clínico-laboratoriais, mas apenas tendências relativas e sugestões para futuros estudos com um número superior de indivíduos.

Em segundo lugar, os dados do estudo basearam-se maioritariamente na informação contida em fichas clínicas do Hospital Veterinário Principal, sendo que algumas das

informações necessárias não estavam registadas nas mesmas. Idealmente deveria ter sido realizado um estudo prospectivo controlado, seguindo um protocolo de estudo idêntico para todos os pacientes, de forma a uniformizar os dados e aumentar a fiabilidade dos resultados.

É de salientar também as limitações financeiras dos proprietários, o que tornou impossível a realização inicial de hemograma e/ou bioquímicas em alguns animais e a reavaliação desses parâmetros ao longo da evolução da doença. Estas limitações económicas também foram determinantes na escolha da terapêutica a realizar, dado que alguns tratamentos mais dispendiosos, como o uso do Interferão ómega recombinante felino, foram imediatamente excluídos por alguns proprietários.

Por último, outra limitação deste estudo foi apenas ter sido possível realizar o diagnóstico definitivo de PIF através de histopatologia em 10 animais, dado que nos restantes casos os proprietários recusaram a sua realização.

VI. CONCLUSÕES

As conclusões retiradas com a elaboração desta dissertação são essencialmente de ordem prática, tendo em conta as limitações enunciadas anteriormente, nomeadamente o tamanho reduzido da amostra, a inexistência de um teste *gold standard* para o diagnóstico de PIF e as limitações económicas dos proprietários, que no seu conjunto podem ter influenciado o diagnóstico, a forma de tratamento e o tempo de vida do animal.

O diagnóstico da Peritonite Infecciosa Felina ainda constitui um desafio para os médicos veterinários na actualidade, especialmente para a forma não-efusiva de PIF devido à falta de especificidade dos sinais clínicos e ao facto de as alterações nos parâmetros analíticos não serem patognomónicas.

Através do estudo retrospectivo realizado e de toda a bibliografia recolhida acerca da doença, concluiu-se que o diagnóstico deve ser baseado na conjunção dos seguintes dados: história e sinais clínicos compatíveis; alterações hematológicas como leucocitose, linfopenia, diminuição do *ratio* A:G e um título de anticorpos anti-coronavírus positivo; e, nos casos de PIF efusiva, presença de efusões cavitárias proteicas, com rácio A:G baixo e presença de elevado número de neutrófilos não degenerados.

O presente estudo permitiu, de uma forma geral, caracterizar a população de felinos afectados por esta doença, tendo-se concluído que é uma doença que ocorre tipicamente em

felídeos jovens, provenientes de ambientes com vários gatos, afectando sobretudo machos inteiros.

As principais alterações clínico-laboratoriais observadas foram: piréxia, anorexia, perda de peso, dilatação abdominal, prostração, anemia não-regenerativa, leucocitose, linfopenia, hiperbilirrubinemia e diminuição do ratio A:G. A hiperbilirrubinemia constituiu um indicador de mau prognóstico, tal como descrito na literatura.

Em termos globais, a média da sobrevida dos gatos tratados foi de 43 dias (7-240 dias), não se tendo verificado a existência de diferenças significativas no tempo de sobrevida dos gatos com PIF efusiva e gatos com PIF não-efusiva. Gatos tratados com interferão ómega felino apresentaram uma sobrevida superior aos gatos tratados com outros fármacos, pelo que este tratamento deverá estar sempre presente no protocolo terapêutico destes animais.

Os testes serológicos foram o exame complementar mais utilizado pelo médico veterinário, ao contrário da análise histológica devido ao elevado risco anestésico destes pacientes.

Devido ao diagnóstico desafiante, custos elevados associados ao tratamento e mau prognóstico, dada a inexistência de tratamentos eficazes, a implementação de medidas de controlo e manejo da infecção pelo FCoV são as ferramentas que poderão ter melhores resultados a longo prazo, visando a diminuição da disseminação e transmissão viral. Desta forma, futuras investigações são necessárias para o desenvolvimento de uma vacina segura, eficaz e que possa ser administrada a partir das 4 semanas de vida, que é o período mais crítico de ocorrência da infecção, com o objectivo de reduzir a prevalência desta doença fatal para os felinos.

VII. BIBLIOGRAFIA

Addie, D.D. & Jarrett, O. (1992). A study of naturally occurring feline coronavirus infections in kittens. *The Veterinary Record*, 130(7), 133–137.

Addie, D.D., Toth, S., Murray, G.D. & Jarrett, O. (1995). Risk of feline infectious peritonitis in cats naturally infected with feline coronavirus. *American Journal of Veterinary Research*, 56(4), 429-434.

Addie, D.D., Paltrinieri, S., Pedersen, N. C. (2004). Recommendations from workshops of the second international feline coronavirus/feline infectious peritonitis symposium. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 6, 125–130.

Addie, D.D. & Jarrett, O. (2006). Feline Coronavirus Infections. In: C. E. Greene, *Infectious diseases of the dog and cat* (3^a Ed., pp. 88-102). Missouri: Elsevier.

Addie, D.D., Belák, S., Boucraut-Baralon, C., Egberink, H., Frymus, T., Gruffydd-Jones, T., Hartmann, K., *et al.* (2009). Feline infectious peritonitis. ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11, 594-604.

Addie, D.D., le Poder, S., Burr, P., Decaro, N., Graham, E., Hofmann-Lehmann, R., Jarret, O., *et al.* (2014). The utility of feline coronavirus antibody tests. *Journal of Feline Medicine and Surgery*

Arosa, F.A. & Cardoso, E.M. (2007). Linfócitos T. In: F.A. Arosa, E.M. Cardoso & F.C. Pacheco, *Fundamentos de Imunologia* (1^aEd., pp.127-145). Lisboa: Lidel.

Bachet, P., Lancrenon, S. & Chassoux, G. (1989). Fibrinogen and pentoxifylline. *Thrombosis Research*, 55(1), 161–163.

Bálint, A., Farsang, A., Szeredi, L., Zádori, Z. & Belák, S. (2013). Recombinant feline coronaviruses as vaccine candidates confer protection in SPF but not in conventional cats. *Veterinary Microbiology*, 169, 154–162.

Battilani, M., Coradin, T., Scagliarini, A., Ciulli, S., Ostanello, F., Prosperi, S. & Morganti, L. (2003). Quasispecies composition and phylogenetic analysis of feline coronaviruses (FCoVs) in naturally infected cats. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 39(2), 141–147.

Benetka, V., Kübber-Heiss, A., Kolodziejek, J., Nowotny, N., Hofmann-Parisot, M. & Möstl, K. (2004). Prevalence of feline coronavirus types I and II in cats with histopathologically verified feline infectious peritonitis. *Veterinary Microbiology*, 99, 31–42.

Berg, A.L., Ekman, K., Belak, S. & Berg, M. (2005). Cellular composition and interferon gamma expression of the local inflammatory response in feline infectious peritonitis (FIP). *Veterinary Microbiology*, 111(1-2), 15–23.

Billich, A., Hammerschmid, F., Peichl, P., Wenger, R., Zenke, G., Quesniaux, V. & Rosenwirth, B. (1995). Mode of action of SDZ NIM 811, a nonimmunosuppressive cyclosporin A analog with activity against human immunodeficiency virus (HIV) type 1: interference with HIV protein-cyclophilin A interactions. *Journal of Virology*, 69(4), 2451–2461.

Bissett, S.A, Stone, M.L, Malik, R., Norris, J.M, O'Brien, C., Mansfield, C.S & Nicholls, J.M, *et al.* (2009). Observed occurrence of *Tritrichomonas foetus* and other enteric parasites in Australian cattery and shelter cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11(10), 803–807.

Boettcher, I.C., Steinberg, T., Matiasek, K., Greene, C.E., Hartmann, K. & Fischer, A. (2007). Use of anti-coronavirus antibody testing of cerebrospinal fluid for diagnosis of feline infectious peritonitis involving the central nervous system in cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 230(2), 199-205.

Brown, M. A. (2011). Genetic determinants of pathogenesis by feline infectious peritonitis virus. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 143, 265–268.

Can-Sahna, K., Soydal Ataseven, V., Pinar, D. & Oğuzoğlu, T.C. (2007). The detection of feline coronaviruses in blood samples from cats by mRNA RT-PCR. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 9(5), 369–372.

Chang, H.W., de Groot, R.J., Egberink, H.F. & Rottier, P. J. (2010). Feline infectious peritonitis: insights into feline coronavirus pathobiogenesis and epidemiology based on genetic analysis of the viral 3c gene. *The Journal of General Virology*, 91(2), 415–420.

Day, M.J., Horzinek, M.C. & Schultz, R.D. (2010). Guidelines for the vaccination of dogs and cats. *Journal of Small Animal Practice*, 51(6), 338-356.

- Dean, G.A, Olivry, T., Stanton, C. & Pedersen, N.C. (2003). In vivo cytokine response to experimental feline infectious peritonitis virus infection. *Veterinary Microbiology*, 97(1-2), 1-12.
- Dewerchin, H.L., Cornelissen, E. & Nauwynck, H.J. (2006). Feline infectious peritonitis virus- infected monocytes internalize viral membrane-bound proteins upon antibody addition. *The Journal of General Virology*, 87, 1685–1690.
- Doki, T., Takano, T., Nishiyama, Y., Nakamura, M. & Hohdatsu, T. (2013). Generation, characterization and therapeutic potential of anti-feline TNF-alpha MAbs for feline infectious peritonitis. *Research in Veterinary Science*, 95, 1248-1254.
- Duarte, A., Veiga, I. & Tavares, L. (2009). Genetic diversity and phylogenetic analysis of Feline Coronavirus sequences from Portugal. *Veterinary Microbiology*, 138(1-2), 163–168.
- Fischer, Y., Ritz, S., Weber, K., Sauter-Louis, C. & Hartmann, K. (2011). Randomized, placebo controlled study of the effect of propentofylline on survival time and quality of life of cats with feline infectious peritonitis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25, 1270–1276.
- Fischer, Y., Sauter-Louis, C. & Hartmann, K. (2012). Diagnostic accuracy of the Rivalta test for feline infectious peritonitis. *Veterinary Clinical Pathology*, 41, 558–567.
- Foley, J.E & Pedersen, N.C. (1996). The inheritance of susceptibility to feline infectious peritonitis in purebred catteries. *Feline Practice*, 24, 14–22.
- Foley, J.E., Poland, A., Carlson, J. & Pedersen, N.C. (1997). Risk factors for feline infectious peritonitis among cats in multiple-cat environments with endemic feline enteric coronavirus. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 210(9), 1313-1318.
- Foley, J.E., Lapointe, J.M., Koblik, P., Poland, A. & Pedersen, N.C. (1998). Diagnostic features of clinical neurologic feline infectious peritonitis. *Journal of veterinary internal*

medicine / American College of Veterinary Internal Medicine, 12(6), 415–423.

Gibson, C. & Parry, N. (2007). Feline infectious peritonitis: typical findings and a new PCR test. *Veterinary Medicine*, 102(6), 375–379.

Giordano, A., Paltrinieri, S., Bertazzolo, W., Milesi, E. & Parodi, M. (2005). Sensitivity of Tru-cut and fine-needle aspiration biopsies of liver and kidney for diagnosis of feline infectious peritonitis. *Veterinary Clinical Pathology*, 34(4), 368–374.

Giordano, A. & Paltrinieri, S. (2009). Interferon-gamma in the serum and effusions of cats with feline coronavirus infection. *Veterinary Journal*, 180(3), 396–398.

Golovko, L., Lyons, L.A., Liu, H., Sørensen, A., Wehnert, S. & Pedersen, N.C. (2013). Genetic susceptibility to feline infectious peritonitis in Birman cats. *Virus Research*, 175, 58–63.

Goodhead, A.D. (1996). Uveitis in dogs and cats: guidelines for the practitioner. *Journal of the South African Veterinary Association*, 67(1), 12–19.

Gunn-Moore, D.A., Gruffydd-Jones, T.J. & Harbour, D.A. (1998). Detection of feline coronaviruses by culture and reverse transcriptase-polymerase chain reaction of blood samples from healthy cats and cats with clinical feline infectious peritonitis. *Veterinary Microbiology*, 62(3), 193–205.

Haagmans, B.L., Egberink, H.F. & Horzinek, M.C. (1996). Apoptosis and T-cell depletion during feline infectious peritonitis. *Journal of Virology*, 70(12), 8977–8983.

Hardy, W.D. & Hurvitz, A.I. (1971). Feline infectious peritonitis: experimental studies. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 158(6), 994–1002.

Harley, R., Fews, D., Helps, C.R. & Siddell, S.G. (2013). Phylogenetic analysis of feline coronavirus strains in an epizootic outbreak of feline infectious peritonitis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 27, 445–450.

Hartmann, K., Binder, C., Hirschberger, J., Cole, D., Reinacher, M., Schroo, S., Frost, J., *et al.* (2003). Comparison of different tests to diagnose feline infectious peritonitis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 17(6), 781-790.

Hartmann, K. (2005). Feline infectious peritonitis. *The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 35(1), 39-79.

Hartmann, K. & Ritz, S. (2008). Treatment of cats with feline infectious peritonitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 123, 172–175.

Hsieh, L.E., Lin, C.N., Su, B.L., Jan, T.R., Chen, C.M., Wang, C.H., Lin, D.S., *et al.* (2010). Synergistic antiviral effect of *Galanthus nivalis* agglutinin and nelfinavir against feline coronavirus. *Antiviral Research*, 88, 25–30.

Held, S., König, M., Hamann, H.P., Senge, R., Hullermeier, E. & Neiger, R. (2011). *Accuracy of diagnostic tests for feline infectious peritonitis (FIP) in cats with body cavity effusion*. Proceedings of the European College of Veterinary Internal Medicine Congress, Seville, Spain.

Hohdatsu, T., Okada, S., Ishizuka, Y., Yamada, H. & Koyama, H. (1992). The prevalence of types I and II feline coronavirus infections in cats. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 54(3), 557–562.

Hohdatsu, T., Yamato, H., Ohkawa, T., Kaneko, M., Motokawa, K., Kusuhara, H., Kaneshima, T., *et al.* (2003). Vaccine efficacy of a cell lysate with recombinant baculovirus-expressed feline infectious peritonitis (FIP) virus nucleocapsid protein against progression of FIP. *Veterinary Microbiology*, 97(1-2), 31-44.

Hornýák, A., Bálint, A., Farsang, A., Balka, G., Hakhverdyan, M., Rasmussen, T.B., Blomberg, J., *et al.* (2012). Detection of subgenomic mRNA of feline coronavirus by real-time polymerase chain reaction based on primer-probe energy transfer (P-sg-QPCR). *Journal of virological methods*, 181(2), 155-163.

Ishida, T., Shibana, A., Tanaka, S., Uchida, K. & Mochizuki, M. (2004). Use of recombinant feline interferon and glucocorticoid in the treatment of feline infectious peritonitis. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 6, 107-109.

Jacobse-Geels, H.E., Daha, M.R., Horzinek, M.C. (1980). Isolation and characterization of feline C3 and evidence for the immune complex pathogenesis of feline infectious peritonitis. *Journal of Immunology*, 125, 1606-1610.

Jacobse-Geels, H.E., Daha, M.R. & Horzinek, M.C. (1982). Antibody immune complexes and complement activity fluctuations in kittens with experimentally induced feline infectious peritonitis. *American Journal of Veterinary Research*, 43, 666-670

Kass, P.H & Dent, T.H. (1995). The epidemiology of feline infectious peritonitis in catteries. *Feline Practice*, 23, 27–32.

Kennedy, M., Boedeker, N., Gibbs, P. & Kania, S. (2001). Deletions in the 7a ORF of feline coronavirus associated with an epidemic of feline infectious peritonitis. *Veterinary Microbiology*, 81(3), 227–234.

Kennedy, M.A., Abd-Eldaim, M., Zika, S.E., Mankin, J.M. & Kania, S.A. (2008). Evaluation of antibodies against feline coronavirus 7b protein for diagnosis of feline infectious peritonitis in cats. *American Journal of Veterinary Research*, 69(9), 1179-1182.

Kennedy, M. & Little, S. (2012). Infectious Diseases. In: S. E. Little, *The Cat: Clinical Medicine and Management* (1^a Ed., pp. 1038-1047). Missouri: Elsevier.

Kipar, A., Baptiste, K., Barth, A. & Reinacher, M. (2006). Natural FCoV infection: cats with FIP exhibit significantly higher viral loads than healthy infected cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 8(1), 69-72.

Kipar, A., Meli, M.L., Baptiste, K.E., Bowker, L.J. & Lutz, H. (2010). Sites of feline coronavirus persistence in healthy cats. *The Journal of General Virology*, 91(7), 1698–1707.

Kipar, A. & Meli, M. L. (2014). Feline Infectious Peritonitis: Still an Enigma?. *Veterinary Pathology*, 51(2), 505-526.

Kiss, I., Poland, A.M. & Pedersen, N.C. (2004). Disease outcome and cytokine responses in cats immunized with an avirulent feline infectious peritonitis virus (FIPV)-UCD1 and challenge-exposed with virulent FIPV-UCD8. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 6(2), 89–97.

Kline, K.L., Joseph, R.J. & Averill, D.R. (1994). Feline infectious peritonitis with neurologic involvement: clinical and pathological findings in 24 cats. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 30, 111-118.

Kummrow, M., Meli, M. L., Haessig, M., Goenczi, E., Poland, A., Pedersen, N. C., Hofmann-Lehmann, R., *et al.* (2005). Feline coronavirus serotypes 1 and 2: seroprevalence and association with disease in Switzerland. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 12(10), 1209-1215.

Legendre, A.M. & Bartges, J.W. (2009). Effect of Polyprenyl Immunostimulant on the survival times of three cats with the dry form of feline infectious peritonitis. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11(8), 624-626.

Lewis, K. M. & O'Brien, R. T. (2010). Abdominal Ultrasonographic Findings Associated With Feline Infectious Peritonitis: A Retrospective Review of 16 Cases. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 46, 152-160.

Licitra, B.N., Millet, J.K., Regan, A.D., Hamilton, B.S., Rinaldi, V.D., Duhamel, G.E. & Whittaker, G.R. (2013). Mutation in spike protein cleavage site and pathogenesis of feline coronavirus. *Emerging Infectious Diseases*, 19(7), 1066–1073.

Lin, C.N., Su, B.L., Huang, H.P., Lee, J.J., Hsieh, M.W. & Chueh, L.L. (2009). Field strain feline coronaviruses with small deletions in ORF7b associated with both enteric infection and feline infectious peritonitis. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11(6), 413-419.

Litster, A. L., Pogranichniy, R. & Lin, T. L. (2013). Diagnostic utility of a direct immunofluorescence test to detect feline coronavirus antigen in macrophages in effusive feline infectious peritonitis. *The Veterinary Journal*, 198, 362-366.

Masters, P.S. (2006). The molecular biology of coronaviruses. *Advances in Virus Research*, 66, 193–292.

Meli, M., Kipar, A., Müller, C., Jenal, K., Gönczi, E., Borel, N., Gunn-Moore, D., *et al.* (2004). High viral loads despite absence of clinical and pathological findings in cats experimentally infected with feline coronavirus (FCoV) type I and in naturally FCoV-infected cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 6(2), 69-81.

Myrrha, L. W., Silva, F. M. F., Peternelli, E. F. D. O., Junior, A. S., Resende, M. & Almeida, M. R. (2011). The Paradox of Feline Coronavirus Pathogenesis: A Review. *Advances in Virology*, 2011, 1 – 8.

Negrin, A., Lamb, C.R., Cappello, R. & Cherubini, G.B. (2007). Results of magnetic resonance imaging in 14 cats with meningoencephalitis. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 9(2), 109-116.

Norris, J.M., Bell, E.T, Hales, L., Toribio, J.A., White, J.D., Wigney, D.I., Baral, R.M., *et al.* (2007). Prevalence of feline immunodeficiency virus infection in domesticated and feral cats in eastern Australia. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 9(4), 300–308.

Norsworthy, G. (2011). Feline Infectious Peritonitis. In: G. Norsworthy, *The Feline Patient* (4^a Ed., pp. 181-183). Iowa: Wiley-Blackwell.

Paltrinieri, S., Cammarata, M. P., Cammarata, G. & Comazzi, S. (1998). Some aspects of humoral and cellular immunity in naturally occurring feline infectious peritonitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 65, 205-220.

Paltrinieri, S., Parodi, M.C. & Cammarata, G. (1999). In vivo diagnosis of feline infectious peritonitis by comparison of protein content, cytology, and direct immunofluorescence test on peritoneal and pleural effusions. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 11(4), 358-361.

Paltrinieri, S., Metzger, C., Battilani, M., Pocacqua, V., Gelain, M. E. & Giordano, A. (2007). Serum alpha1-acid glycoprotein (AGP) concentration in non-symptomatic cats with feline coronavirus (FCoV) infection. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 9(4), 271–277.

Pedersen, N.C., Evermann, J.F., McKeirnan, A.J. & Ott, R.L. (1984). Pathogenicity studies of feline coronavirus isolates 79-1146 and 79-1683. *American Journal of Veterinary Research*, 45(12), 2580-2585.

Pedersen, N.C., Addie, D. & Wolf, A. (1995). Recommendations from working group of the international coronavirus and feline infectious peritonitis workshop. *Feline Practice*, 23, 108-111.

Pedersen, N.C., Allen, C. E. & Lyons, L. A. (2008). Pathogenesis of feline enteric coronavirus infection. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 10(6), 529–541.

Pedersen, N.C. (2009). A review of feline infectious peritonitis virus infection: 1963-2008. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11, 225–258.

Pedersen, N.C. (2014a). An update on feline infectious peritonitis: Diagnostics and therapeutics. *The Veterinary Journal*, doi: 10.1016/j.tvjl.2014.04.016

Pedersen, N.C. (2014b). An update on feline infectious peritonitis: virology and immunopathogenesis. *The Veterinary Journal*, doi: 10.1016/j.tvjl.2014.04.017

Pesteanu-Somogyi, L. D., Radzai, C. & Pressler, B. M. (2006). Prevalence of feline infectious peritonitis in specific cat breeds. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 8, 1-5.

Poland, A.M, Vennema, H., Foley, J.E & Pedersen, N.C. (1996). Two related strains of feline infectious peritonitis virus isolated from immunocompromised cats infected with a feline enteric coronavirus. *Journal of Clinical Microbiology*, 34(12), 3180–3184.

Posch, A., Posch, U., Kubber-Heiss, A., Seiser, M. & Moestl, K. (1999). Differentiation of feline coronaviruses type I and II strains by RT-PCR. In: *Proceedings of the WSAVA World veterinary congress*. Lyon.

Pratelli, A. (2008). Comparison of serologic techniques for the detection of antibodies against feline coronaviruses. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 20(1), 45-50.

Quesnel, A.D., Parent, J.M., McDonell, W., Percy, D. & Lumsden, J.H. (1997). Diagnostic evaluation of cats with seizure disorders: 30 cases (1991-1993). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 210(1), 65-71.

Ramsey, I.K. & Tennant, B.J. (2001). The Peritoneal Cavity. In: I.K. Ramsey & B.J. Tennant, *BSAVA Manual of Canine and Feline Infectious Diseases* (pp. 158-165). UK: British Small Animal Veterinary Association.

Regan, A.D., Shraybman, R., Cohen, R.D. & Whittaker, G.R. (2008). Differential role for low pH and cathepsin-mediated cleavage of the viral spike protein during entry of serotype II feline coronaviruses. *Veterinary Microbiology*, 132(3-4), 235–248.

Ritz, S., Egberink, H. & Hartmann, K. (2007). Effect of Feline Interferon-Omega on the Survival Time and Quality of Life of Cats with Feline Infectious Peritonitis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21(6), 1193–1197.

Robison, R.L, Holzworth, J. & Gilmore, C.E. (1971). Naturally occurring feline infectious peritonitis: signs and clinical diagnosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 158, 981-986.

Rohrbach, B.W., Legendre, A.M., Baldwin, C.A., Lein, D.H., Reed, W.M. & Wilson, R.B. (2001). Epidemiology of feline infectious peritonitis among cats examined at veterinary

medical teaching hospitals. *Journal of the American Veterinary Medicine Association*, 218(7), 1111–1115.

Rottier, P.J. (1995). The coronavirus membrane glycoprotein. In: S.G. Siddell (Ed.), *The Coronaviridae* (1^a Ed., pp. 115–140). New York: Plenum Press.

Rottier, P. J., Nakamura, K., Schellen, P., Volders, H. & Haijema, B. J. (2005). Acquisition of macrophage tropism during the pathogenesis of feline infectious peritonitis is determined by mutations in the feline coronavirus spike protein. *Journal of Virology*, 79, 14122-14130.

Savary, K.C., Sellon, R.K. & Law, J.M. (2001). Chylous abdominal effusion in a cat with feline infectious peritonitis. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 37(1), 35-40.

Sharif, S., Arshad, S.S., Hair-Bejo, M., Omar, A.R., Zeenathul, N.A. & Hafidz, M.A. (2009). Prevalence of feline coronavirus in two cat populations in Malaysia. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11(12), 1031-1034.

Sharif, S., Arshad, S. S., Hair-Bejo, M., Omar, A. R., Zeenathul, N. A. & Alazawy, A. (2010). Diagnostic Methods for Feline Coronavirus: A Review. *Veterinary Medicine International*, 2010, 1–7.

Sherding, R. (2006). Feline Infectious Peritonitis. In: S. Birchard & R. Sherding, *Saunders Manual of Small Animal Practice* (3^a Ed., pp. 132-143). Missouri: Elsevier.

Sparkes, A.H., Gruffydd-Jones, T.J., Harbour, D.A. (1991). Feline infectious peritonitis: a review of clinicopathological changes in 65 cases, and a critical assessment of their diagnostic value. *The Veterinary Record*, 129(10), 209–212.

Sykes, J.E. (2014). Feline Coronavirus Infection. In: J. E. Sykes, *Canine and Feline Infectious Diseases* (1^a Ed., pp. 195-208). Missouri: Elsevier.

- Sykes, J.E. & Papich, M.G. (2014). Antiviral and Immunomodulatory Drugs. In: J. E. Sykes, *Canine and Feline Infectious Diseases* (1^a Ed., pp. 54-65). Missouri: Elsevier.
- Takano, T., Katada, Y., Moritoh, S., Ogasawara, M., Satoh, K., Satoh, R., Tanabe, M., *et al.* (2008). Analysis of the mechanism of antibodydependent enhancement of feline infectious peritonitis virus infection: aminopeptidase N is not important and a process of acidification of the endosome is necessary. *The Journal of General Virology*, 89,1025–1029.
- Takano, T., Katoh, Y., Doki, T. & Hohdatsu, T. (2013). Effect of chloroquine on feline infectious peritonitis virus infection in vitro and in vivo. *Antiviral Research*, 99, 100–107.
- Tammer, R., Evensen, O., Lutz, H. & Reinacher, M. (1995). Immunohistological demonstration of feline infectious peritonitis virus antigen in paraffin-embedded tissues using feline ascites or murine monoclonal antibodies. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 49(1-2), 177–182.
- Tanaka, Y., Sato, Y., Osawa, S., Inoue, M., Tanaka, S. & Sasaki, T. (2012). Suppression of feline coronavirus replication in vitro by cyclosporin A. *Veterinary Research*, 43, 1-7.
- Taylor, S.S., Tappin, S.W., Dodkin, S.J., *et al.* (2010). Serum protein electrophoresis in 155 cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 12, 643-653.
- Tekes, G., Hofmann-Lehmann, R., Bank-Wolf, B., Maier, R., Thiel, H.J. & Thiel, V. (2010). Chimeric feline coronaviruses that encode type II spike protein on type I genetic background display accelerated viral growth and altered receptor usage. *Journal of Virology*, 84(3), 1326–1333.
- Timmann, D., Cizinauskas, S., Tomek, A., Doherr, M., Vandeveld, M. & Jaggy, A. (2008). Retrospective analysis of seizures associated with feline infectious peritonitis in cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 10, 9-15.

Toribio, J.A., Norris, J.M., White, J.D., Dhand, N.K., Hamilton, S.A. & Malik, R. (2009). Demographics and husbandry of pet cats living in Sydney, Australia: results of cross-sectional survey of pet ownership. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11(6), 449–461.

Tsai, H., Chueh, L., Lin, C. & Su, B. (2011). Clinicopathological findings and disease staging of feline infectious peritonitis: 51 cases from 2003 to 2009 in Taiwan. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 13, 74-80.

Van Hamme, E., Dewerchin, H.L., Cornelissen, E., Verhasselt, B. & Nauwynck, H.J. (2008). Clathrin- and caveolae-independent entry of feline infectious peritonitis virus in monocytes depends on dynamin. *The Journal of General Virology*, 89(9), 2147–2156.

Vennema, H., Poland, A., Hawkins, K.F. & Pedersen, N.C. (1995). A comparison of the genomes of FECVs and FIPVs and what they tell us about the relationships between feline coronaviruses and their evolution. *Feline Practice*, 23, 40–44.

Vennema, H., Poland, A., Foley, J. & Pedersen, N.C. (1998). Feline infectious peritonitis viruses arise by mutation from endemic feline enteric coronaviruses. *Virology*, 243(1), 150–157.

Wang, Y.T., Su, B.L., Hsieh, L.E. & Chueh, L.L. (2013). An outbreak of feline infectious peritonitis in a Taiwanese shelter: Epidemiologic and molecular evidence for horizontal transmission of a novel type II feline coronavirus. *Veterinary Research*, 44(1), 57.

Watari, T., Kaneshima, T., Tsujimoto, H., Ono, K. & Hasegawa, A. (1998). Effect of thromboxane synthetase inhibitor on feline infectious peritonitis in cats. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 60(5), 657–659.

Weiss, R.C. & Scott, F.W. (1981). Pathogenesis of feline infectious peritonitis: pathologic changes and immunofluorescence. *American Journal of Veterinary Research*, 42(12), 2036-2048.

Weiss, R.C., Cox, N.R. & Oostrom-Ram, T. (1990). Effect of interferon or *Propionibacterium acnes* on the course of experimentally induced feline infectious peritonitis in specific-pathogen free and random-source cats. *American Journal of Veterinary Research*, 51(5), 726–733.

Wolfe, L.G. & Griesemer, R.A. (1966). Feline infectious peritonitis. *Veterinary Pathology*, 3(3), 255-270.

Worthing, K. A., Wigney, D. I., Dhand, N. K., Fawcett, A., McDonagh, P., Malik, R. & Norris, J. M. (2012). Risk factors for feline infectious peritonitis in Australian cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 14(6), 405–412.

Wright, K.N., Gompf, R.E. & DeNovo, R.C. (1999). Peritoneal effusion in cats: 65 cases (1981-1997). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 214(3), 375-381.

Zhao, G., Shi, S.Q., Yang, Y. & Peng, J.P. (2006). M and N proteins of SARS coronavirus induce apoptosis in HPF cells. *Cell Biology and Toxicology*, 22(5), 313–322.

APÊNDICE I

Valores de referência do hemograma para a espécie felina

Parâmetro	Valores de referência
Eritrócitos	5,0-10,0 x 10 ⁶ /μL
Hematócrito	25,8-48,1 %
Hemoglobina	8,9-15,3 g/dL
VCM	43,4-52,8 fL
HCM	14,1-18,6 pg
CHCM	30,6-35,8 g/dL
Leucócitos	6,62-18,05 x 10 ³ /μL
Linfócitos	1,4-7,0 x 10 ³ /μL
Monócitos	0,1-0,79 x 10 ³ /μL
Plaquetas	300-631 x 10 ³ /μL

Valores de referência das bioquímicas para a espécie felina

Parâmetro	Valores de referência
Proteínas totais	6,5-8,9 g/dL
Albumina	2,4-4,1 g/dL
ALT	22-45 U/L
FA	10-50 U/L
Bilirrubina total	0-0,7 mg/dL
BUN	20-50 mg/dL
Creatinina	0,7-1,8 mg/dL

APÊNDICE II

Dados estatísticos relativos à titulação de anticorpos anti-coronavírus felino no Laboratório DNATech referentes ao ano 2013

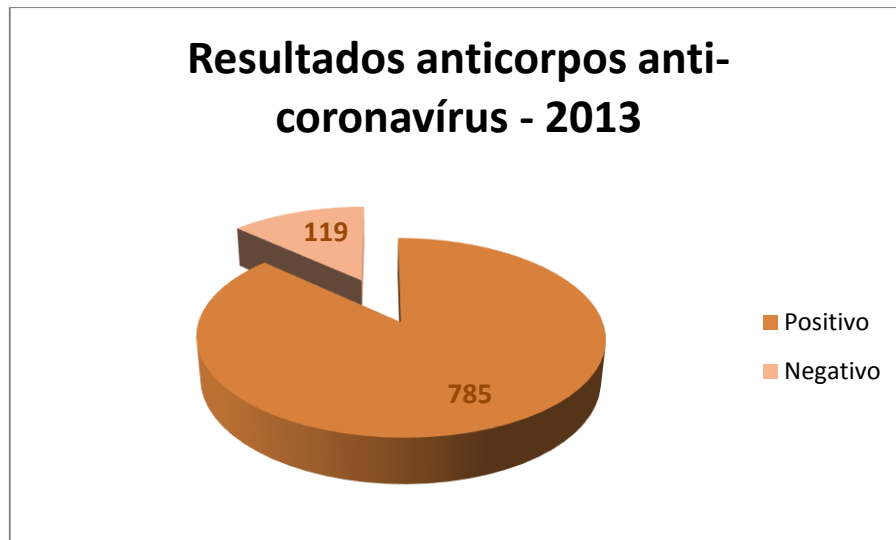


Gráfico 1 - Resultados dos testes serológicos (IFI) de titulação de anticorpos anti-coronavírus felino realizados no Laboratório DNATech em 2013 (N= 904 felídeos). Positivo: $\geq 1:25$; Negativo : $< 1:25$.

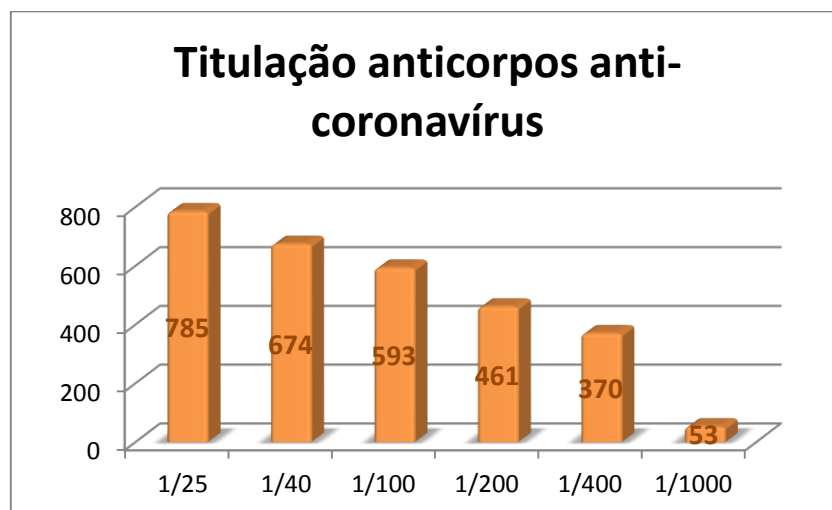


Gráfico 2 - Representação do nº de animais positivos nas diferentes titulações de anticorpos (critério de valorização sugestivo de PIF: títulos iguais ou superiores a 1:400).

APÊNDICE III

Medidas para o controlo de PIF em gatis (*Adaptado de Addie et al., 2009*)

Medida	Descrição
Redução do número de gatos	<ul style="list-style-type: none">✓ Minimizar a sobre-população e o stress. Uma elevada densidade populacional permite um elevado nível de contaminação fecal do ambiente, facilitando a propagação feco-oral da infecção✓ Os proprietários não devem ter mais de 6 a 10 gatos✓ Os gatos devem ser mantidos em grupos estáveis de 3 a 4 animais de modo a reduzir a contaminação cruzada entre gatos✓ Os gatos devem ser mantidos isolados em condições de resgate✓ Em programas de erradicação de FCoV, os gatos devem ser agrupados de acordo com o seu estatuto de anticorpos ou excreção viral: seronegativos e não excretadores juntos; seropositivos e excretadores juntos
Testagem de anticorpos ou viral	<ul style="list-style-type: none">✓ Testar gatos novos antes da sua introdução no gatil ou acasalamento✓ Apenas gatos seronegativos e não excretadores do vírus devem ser introduzidos em gatis livres de FCoV✓ É mais seguro introduzir gatos seropositivos do que gatos seronegativos em locais onde o FCoV é endémico, mas continua a ser um risco de PIF tanto para os gatos introduzidos como para os gatos da casa✓ Idealmente, identificar e eliminar portadores persistentes que excretam continuamente grandes quantidades de vírus através do uso de testes fecais RT-PCR repetidos ao longo de vários meses
Desmame precoce e isolamento	Consultar Apêndice IV

Medida	Descrição
Redução da contaminação fecal do ambiente	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Ter um número adequado de liteiras ✓ Limpar as liteiras pelo menos uma vez por dia ✓ Remover toda a areia e desinfetar a liteira pelo menos uma vez por semana ✓ Colocar as liteiras afastadas dos comedouros e bebedouros ✓ Aspirar com regularidade o local onde estão as liteiras ✓ Escovar o pêlo dos gatos regularmente para remover as partículas fecais contaminadas que podem ser ingeridas durante o grooming ✓ Tosquiar a zona perianal de gatos com pêlo comprido
Vacinação	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Se novos gatos tiverem que ser introduzidos numa casa com infecção endémica, devem ser vacinados antes da sua introdução

APÊNDICE IV

Medidas para a prevenção da infecção por FCoV em gatinhos (*Adaptado de Addie et al., 2009*)

Medida	Descrição
Preparar as instalações dos gatinhos	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Retirar a gata e todos os gatinhos uma semana antes da introdução de uma nova gata ✓ Desinfectar as instalações com hipoclorito de sódio numa diluição de 1:32 ✓ Separar as liteiras dos comedouros e bebedouros e desinfectar com hipoclorito de sódio ✓ Introduzir a gata sozinha 1 a 2 semanas antes do parto
Procedimentos de manejo	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Tratar dos gatinhos antes de contactar com outros gatos ✓ Lavar as mãos com desinfectante antes de entrar nas instalações dos gatinhos ✓ Ter roupa e sapatos usados exclusivamente no local de permanência dos gatinhos
Desmame e isolamento precoce dos gatinhos	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Testar a gata para anticorpos anti-coronavírus antes ou depois do parto ✓ Se a gata for seropositiva, deve ser removida das instalações onde se encontram os gatinhos quando estes tiverem 5-6 semanas de idade ✓ Se a gata for seronegativa, pode permanecer com os gatinhos até estes serem mais velhos ✓ O desmame precoce tem como desvantagem poder afectar de forma adversa o desenvolvimento social dos gatinhos
Testagem de gatinhos	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Testar os gatinhos para anticorpos anti-coronavírus depois das 10 semanas de idade para assegurar que são seronegativos (não devem ser testados antes pois podem não seroconverter até às 10 semanas)